
ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

LES VIBRIONS INTestinaux ET LA PATHOGÉNIE DU CHOLÉRA

PAR M. LE D^r J. SANARELLI

Professeur d'Hygiène à l'Université de Siéne.

I

ORIGINE DES VIBRIONS CHOLÉRIQUES TROUVÉS DANS LES EAUX

Les récents progrès de la technique bactériologique ont ébranlé la doctrine étiologique du choléra au lieu de lui fournir, comme on aurait pu s'y attendre, un appui de plus en plus ferme. La découverte de vibrions cholériques dans une foule d'eaux¹, en dehors de toute épidémie actuelle ou récente de choléra, constituait, au regard de la doctrine de Koch, une difficulté ou une objection dont on a cherché de diverses manières à atténuer l'importance.

M. Dunbar², après avoir retrouvé comme moi des vibrions cholériques dans les eaux de localités indemnes de choléra, a cherché, sans y réussir, des réactions différentielles entre ces vibrions et les vibrions cholériques vrais.

J'avais bien remarqué que parmi ceux que j'avais découverts dans les eaux de Paris et de Versailles, il y en avait qui n'étaient pas pathogènes pour les animaux, ne fournissaient pas la réaction rouge caractéristique, et présentaient d'autres caractères de culture que les vibrions isolés des selles de cholériques; mais, après avoir vu que ces derniers, après un long séjour dans l'eau, se rapprochaient par leurs caractères des vibrions hydriques, j'ai admis que ceux-ci n'étaient que les premiers, dégénérés à la suite d'une longue vie saprophytique.

1. Voir à ce sujet mon mémoire inséré dans ces *Annales*, 1893, p. 693.

2. *Arbeiten d. K. Gesundheitsamte*, t. IX, 1893, p. 379.

Dunbar n'accepte pas ces conclusions, mais j'ai eu le plaisir de les voir confirmer par les récentes observations de MM. Celli et Santori¹, sur l'épidémie cholérique de Rome en 1893, et de MM. Pestana et Bettencourt² sur la récente épidémie de Lisbonne. Ces savants ont isolé, de déjections cholériques authentiques, des vibrions ayant les mêmes caractères que les miens, et aucun bactériologiste ne distinguerait le vibron de Lisbonne, que je tiens de M. Bettencourt, de ceux que j'ai trouvés en abondance dans les eaux de Paris et de Versailles.

La solution de cette question étiologique du choléra doit sortir, du reste, d'autre chose que de subtils artifices de diagnose différentielle, et il faut chercher d'où proviennent ces vibrions de l'eau, et par quels moyens ils peuvent reprendre leur puissance pathogène sur l'homme.

Sur ce dernier point, M. Metchnikoff a fait faire à la question un grand pas en nous donnant les moyens de reproduire sur l'homme le tableau caractéristique du choléra, à l'aide des vibrions que j'avais isolés des eaux de la Seine, à Saint-Cloud, et d'une fontaine publique à Versailles.

Du moment qu'on ne peut les considérer ni comme des survivants d'anciennes épidémies, puisque Versailles a toujours été indemne, ni comme des hôtes vulgaires et habituels des eaux, puisqu'il n'y en a pas partout, il reste à se demander d'où ils venaient dans les eaux où on les a rencontrés.

J'ai pensé et dit, dans mon mémoire, qu'ils provenaient de l'intestin de l'homme ou des animaux. Déjà M. Rumpel³, à Hambourg, M. Metchnikoff⁴, à Paris, avaient trouvé des vibrions cholériques dans les selles d'individus bien portants; M. Vogler⁵ dans celles d'un malade traité à l'hôpital d'Altona pour du délire; M. Ivanoff⁶ dans celles d'un typhique à Berlin. Les partisans de Koch eux-mêmes admettaient que le vibron virgule peut vivre et se multiplier abondamment dans l'intestin d'un homme en temps d'épidémie cholérique, sans lui donner le choléra. Mais il semble exister aussi en l'absence de toute épidémie, et si on n'a

1. *Centralbl. f. Bakt.*, 1894, n° 21.

2. *Revista de Medic. e Cirurgia*, 1894, n° 10.

3. *Deutsche med. Wochenschrift*, 1893, p. 160.

4. *Ces Annales*, 1893, p. 362.

5. *Deutsche med. Woch.*, 1893, n° 35.

6. *Zeitschr. f. Hyg.*, 1893, p. 434.

pas constaté plus souvent sa présence dans ces conditions, c'est que les recherches ne se font guère que pendant les périodes épidémiques.

Déjà, à l'occasion de quelques tentatives pour donner le choléra aux cobayes, j'avais vu que des cobayes robustes, qui auraient pu résister séparément à l'inoculation intrapéritonéale d'une dose de poison typhique, et à l'injection gastrique d'une abondante émulsion de vibrions de Massouah dans du bicarbonate de soude, succombent en quelques heures quand on associe ces deux injections, et présentent un tableau tout à fait pareil à celui du choléra humain. Leurs masses intestinales apparaissent congestionnées, hémorragiques, distendues et excessivement diarrhéiques. L'intestin grêle est plein d'un liquide séreux, transparent, dans lequel nagent un grand nombre de flocons blanchâtres; le gros intestin est toujours si dilaté par le contenu diarrhéique et par les gaz, qu'il détermine, presque à lui seul, l'énorme distension du ventre invariablement observée en pareil cas.

Au premier aspect, il semble qu'il s'agit d'un cas authentique de choléra intestinal; mais une observation plus attentive ne justifie pas cette supposition. Les vibrions sont extrêmement rares dans le contenu intestinal; l'intestin grêle, rempli d'un abondant transsudat séreux, riche en flocons épithéliaux détachés des parois, ressemble à celui qu'on observe dans les cadavres des cholériques; mais les bacilles injectés y font presque complètement défaut. En somme on voit, avec évidence, que les altérations anatomiques ne sont pas en rapport avec la multiplication des microbes introduits du dehors.

L'examen du contenu diarrhéique du gros intestin, lequel est également profondément frappé, est encore plus intéressant.

Ici encore les vibrions de Massouah se distinguent assez bien au milieu des microbes si variés de l'intestin, mais ils ne sont jamais prépondérants, et, à côté d'eux, on observe un nombre parfois colossal de spirilles et d'autres vibrions caractéristiques, appartenant indubitablement à des espèces différentes.

Ces spirilles se colorent, en général, avec une certaine difficulté, même en employant la fuchsine phéniquée de Ziehl; quelques-uns sont gros au centre et effilés aux extrémités à la manière des *spirochæte*; quelques-uns sont très minces, en forme

d'élégantes spirales ; d'autres, d'un diamètre uniforme, présentent sur leur longueur deux ou trois courbures ; d'autres, enfin, ont simplement l'aspect de petites virgules. Toutes ces variétés de vibrions semblent trouver, dans l'intestin diarrhéique des cobayes, le milieu le plus propice à leur multiplication.

En goutte pendante, quelques-uns de ces spirilles sont très agiles et traversent le champ avec rapidité ; d'autres possèdent seulement un mouvement vibratoire lent et régulier ; d'autres enfin semblent presque absolument immobiles.

Quant à leur provenance, il ne peut y avoir aucun doute ; j'en avais déjà observé de pareils, spécialement certaines formes nettement spirillaires, dans l'intestin de cobayes normaux, et l'unique circonstance notable était celle de leur énorme multiplication dans l'intestin diarrhéique.

J'échouai dans une longue série de tentatives d'isolement de ces microbes, en les prenant soit dans les cobayes des expériences ci-dessus, soit sur des cobayes normaux, ou des cobayes tués au moyen de l'injection intrapéritonéale de toxine typhique à fortes doses.

En rapprochant cet insuccès de leur prodigieuse multiplication dans l'intestin diarrhéique des animaux, je me demandai s'ils ne trouvaient pas dans l'intestin malade des conditions propices à leur développement, et j'en vins à essayer de déterminer, chez les cobayes, une forme d'entérite toxique grave et, autant que possible, d'une certaine durée. Il était supposable que, durant ce processus inflammatoire un peu prolongé, quelques-uns des vibrions saprophytes de l'intestin pourraient parvenir à acquérir des propriétés dont ils sont d'ordinaire dépourvus, surtout celle de se cultiver dans les milieux nutritifs des laboratoires.

On sait, en effet, que les vibrions, habitués à vivre dans un milieu déterminé, en acceptent difficilement un autre. J'ai observé souvent ce fait dans les vibrions hydriques ; MM. *Celli* et *Santori* l'ont retrouvé pour les vibrions isolés des déjections cholériques, et qui n'ont pris qu'au bout de 8 mois de culture au laboratoire la propriété de fournir la réaction rouge et de se développer en bouillon, en gélose et en solutions de peptone à 37°.

De même, le fait que, dans certaines formes d'entérite toxique, comme, par exemple, dans la fièvre typhoïde, les

microbes intestinaux (*B. coli*), d'ordinaire non pathogènes, prennent rapidement une grande virulence, fait croire que les graves processus entériques peuvent favoriser le réveil d'un grand nombre de propriétés biologiques chez les microbes inoffensifs des fèces.

Parmi les moyens que j'ai employés pour provoquer chez les cobayes une entérite toxique, le meilleur est l'intoxication par la toxine cholérique, avec ou sans le concours de la toxine typhique.

Avant tout, je crois utile d'indiquer brièvement la préparation de ces toxines.

Pour la toxine cholérique, on ensemence des vibrions virulents dans un grand ballon contenant 2 litres de solution de gélatine peptone (2 0/0 de peptone, 2 0/0 de gélatine, et 1 0/0 de sel marin). Au bout d'un mois à 37°, on alcalinise fortement avec de l'hydrate sodique et on fait évaporer lentement, à 60°, presque jusqu'à consistance sirupeuse. Au résidu, on ajoute environ 10 c. c. de glycérine et on le maintient pendant environ deux semaines à la température de l'étuve. Cette longue macération désagrège le protoplasma des vibrions. On retire le liquide de l'étuve, on y ajoute de l'eau distillée jusqu'à le ramener au quart du volume primitif, on neutralise exactement avec de l'acide lactique, et ensuite on stérilise à 120°.

Le liquide ainsi préparé a un grand pouvoir toxique. Il est brunâtre et très trouble; le corps des vibrions cholériques est extraordinairement résistant, même aux agents chimiques les plus énergiques, et, malgré le traitement prolongé avec de la soude caustique et de la glycérine, il ne se désagrège que partiellement.

Le contraire a lieu pour quelques autres microbes, par exemple, pour le bacille typhique dont le protoplasma, beaucoup moins résistant, se laisse attaquer avec facilité et, pour la plus grande partie, dissoudre dans le liquide de macération.

La toxine typhique, que j'ai parfois employée dans ces recherches, n'avait subi aucun traitement spécial; elle était simplement représentée par une vieille culture en bouillon glycérimé, stérilisée à 120°, laquelle tuait les cobayes à la dose *minima* de 8 c. c.

Les toxines vibrioniennes, au contraire, étaient mortelles

pour les cobayes, à petites doses : 0,5 à 1 c. c. dans le péritoine tuait infailliblement en 12-24 heures ¹.

On sait que tous les poisons microbiens connus jusqu'à présent sont tout à fait inactifs lorsqu'on les administre seuls par la voie gastrique. Ma toxine cholérique fait exception, car, injectée dans l'estomac, pendant deux jours de suite, à la dose de 3 c. c. dilués dans un volume égal d'une solution saturée de bicarbonate de soude, elle tue presque régulièrement les cobayes quelques heures après la seconde injection. De plus, injectée dans l'estomac, même sans bicarbonate sodique, à la dose de 0,5 0/0 du poids de l'animal, elle tue les cobayes en 24 heures, lorsqu'on injecte en même temps, dans le péritoine, 2 c. c. de toxine typhique, c'est-à-dire une dose presque inoffensive.

Si l'on porte la quantité de toxine cholérique susdite à 1 0/0 du poids de l'animal, celui-ci meurt en 8-10 heures.

Enfin, en alcalinisant l'estomac des cobayes avec 6 c. c. de la solution saturée de bicarbonate (dose qui est tolérée par les cobayes, sans aucun trouble, pendant un grand nombre de jours consécutifs) et en injectant ensuite, dans le péritoine, 2 c. c. de la toxine typhique, les animaux succombent rapidement comme s'ils avaient reçu la dose mortelle de toxine cholérique.

En résumant ces données, sur lesquelles se baseront presque exclusivement ces recherches, on voit la grande influence qu'un liquide aussi peu alcalin que le bicarbonate de soude exerce sur la muqueuse digestive, lorsque, sur celle-ci, agit simultanément un poison microbien comme celui du typhus ou du choléra.

Dans tous les cas où l'action du bicarbonate fut exclue, on l'a remplacé par l'injection intrapéritonéale de la toxine typhique, laquelle, comme on le sait ², n'agit sur la muqueuse intestinale que par la voie de la circulation, déterminant une grave entérite toxique desquamative.

La mort des animaux ayant subi un des traitements qui viennent d'être décrits se produit toujours à peu près de la même manière. Ils présentent le tableau de l'entérite cholérique aiguë, produite au moyen de l'injection gastrique de vibrions

1. Dans la suite du présent travail, j'aurai souvent l'occasion de rappeler ces toxines. Il va donc sans dire que j'entendrai toujours désigner celles qui ont été préparées de la manière décrite et qui, par conséquent, sont douées du pouvoir toxique indiqué plus haut.

2. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1894, p. 493.

vivants et associée à l'injection péritonéale de toxine typhique, et le contenu diarrhéique de leur intestin, extrêmement caractéristique, *renferme presque toujours des vibrions qu'on peut observer nettement dans les préparations et qu'on peut isoler dans les milieux ordinaires de culture.*

II

LES VIBRIONS INTestinaux DES COBAYES

La méthode que j'ai préférée pour produire, chez les cobayes, une entérite toxique grave et d'une certaine durée, était celle de l'injection gastrique de toxine cholérique diluée dans du bicarbonate de soude. Dans ce cas, on peut obtenir la mort des cobayes, à volonté, au bout de 2, 3, 4, etc., jours de maladie, en tenant compte de la diminution quotidienne du poids du corps et en diminuant ou en augmentant, dans une certaine proportion, les doses toxiques.

J'ai obtenu moins fréquemment de bons résultats de l'injection gastrique de toxine cholérique et de l'injection intrapéritonéale de toxine typhique. Dans un cas, je pus obtenir également de la diarrhée avec des vibrions, au moyen de l'injection intraveineuse de la toxine du vibron de Paris.

Parmi les différentes toxines cholériques que j'ai préparées, j'ai donné la préférence à celle du vibron de Ghinda (Massouah) comme étant la plus énergique ; mais, comme on le verra, j'ai parfois employé, avec un égal succès, la toxine du vibron de Paris (1892). La toxine du *vibrio Metchnikowi*, au contraire, ne m'a encore donné, jusqu'à présent, aucun résultat.

Voici mon procédé opératoire habituel : On place derrière les incisives de l'animal un morceau de liège percé au centre, et, par le trou, on introduit dans l'estomac une sonde urétrale n° 6, de Collin. A l'orifice de cette sonde est adapté un petit tube de caoutchouc, uni à une seringue au moyen de laquelle on fait l'injection gastrique.

La sonde, ainsi que les autres instruments, les liquides, etc., étaient, chaque fois, soigneusement désinfectés ou stérilisés. Les cobayes provenaient, tour à tour, de localités les plus disparates de la campagne environnante, et, avant les expériences,

on les tenait dans un milieu absolument à l'abri de toute contamination.

Dès que les animaux étaient morts, on pratiquait l'autopsie et l'examen microscopique du contenu intestinal, que l'on semait, en même temps, dans divers tubes contenant la solution de gélatine-peptone.

Au bout de 12-16 heures de séjour dans l'étuve, on examinait indistinctement tous ces tubes au microscope; mais à l'exception de deux cas, dans lesquels je pus retrouver des vibrions qui ne produisaient pas de pellicule, celle-ci représentait toujours, dans les cultures, l'indice le plus sûr de la présence des vibrions, lesquels étaient ensuite isolés au moyen des cultures ordinaires, sur plaques de gélatine.

Je vais, maintenant, décrire chacun des cas dans lesquels il me fut possible d'isoler les vibrions intestinaux des cobayes :

Cobaye A-B.

2/V. gr. 370. Injection gastrique de 2 c. c. de toxine cholérique de Ghinda + 2 c. c. de bicarbonate.

4/V. gr. 403. Injection gastrique de 3 c. c. de toxine cholérique de Ghinda + 3 c. c. de bicarbonate.

6/V. gr. 380. Injection gastrique de 3 c. c. de toxine cholérique de Ghinda + 3 c. c. de bicarbonate.

7/V. l'animal est très mal; diarrhée profuse; sensibilité abdominale, apparition de crampes et d'accès convulsifs prolongés. 12 heures environ après la manifestation des crampes et de la diarrhée, l'animal meurt dans un violent accès de crampes.

Autopsie : Masses intestinales pâles; intestin grêle jaunâtre et diarrhéique; gros intestin excessivement distendu par des gaz et contenant un abondant liquide diarrhéique. Le contenu de l'estomac, de réaction alcaline, est de nature muqueuse, plein de flocons jaune grisâtre, formés par une énorme quantité de leucocytes en dégénérescence granulaire et par des cellules épithéliales dégénérées. Le contenu de l'intestin grêle est également alcalin et constitué par un liquide jaunâtre, trouble, avec un grand nombre de flocons formés par des amas énormes de cellules épithéliales, de leucocytes et de globules rouges bien conservés; on observe également un grand nombre de microbes de formes diverses. Le contenu du gros intestin, à réaction alcaline, est un liquide brunâtre, composé de résidus alimentaires, d'éléments épithéliaux et de bactéries. Parmi celles-ci ressort une énorme quantité de spirilles et surtout d'amibes de toutes les dimensions et très mobiles.

Cultures : à la surface, déjà au bout de 14 heures, des cultures presque pures de vibrions. Les cultures successives à plat, en gélatine, per-

mettent d'en isoler deux variétés qui, à première vue, se distinguent en ce que la première ne produit pas de pellicule superficielle, tandis que, dans la deuxième, on l'observe déjà au bout de quelques heures.

1^{er} VIBRION A. — *Morphologie* : bâtonnets mobiles et minces.

Cultures en gélatine : formation rapide de la bulle d'air, et liquéfaction le long de la piqure. Au bout de trois jours, la culture présente les caractères classiques des cultures de bacilles virgules.

Cultures dans les solutions de gélatine-peptone : rapide développement avec absence de pellicule; le troisième jour commencent à apparaître à la surface quelques flocons et, le quatrième jour, une pellicule fragile est déjà formée. Les vibrions sont de forme spirillaire et filamenteuse.

Cultures sur gélose : développement rapide et abondant, non différenciable de celui des vibrions cholériques.

Cultures sur pomme de terre : faible développement avec formation d'une couche d'abord grisâtre et ensuite jaune brun.

Réaction indol-nitreuse : au bout de 24 heures elle est d'une couleur rouge marquée; au bout de 48 heures elle apparaît rouge fuchsine.

Action pathogène sur les animaux : à petites doses (1/6-1/8 de culture sur gélose) il tue les cobayes inoculés dans le péritoine, en 5-6 heures. L'exsudat péritonéal est très riche en vibrions typiques. Le sang est toujours stérile. Il n'est pas pathogène pour les pigeons.

2^e VIBRION B. — *Morphologie* : bâtonnets très incurvés, mobiles, souvent en forme de spirilles un peu plus gros que les précédents.

Cultures en gélatine : formation rapide de la bulle d'air et liquéfaction le long de la piqure. La culture entière présente bientôt les mêmes caractères que les vibrions cholériques ordinaires.

Cultures dans la solution de gélatine-peptone : petits bâtonnets en forme de virgule, parmi lesquels on observe des filaments très recourbés; ils s'y développent rapidement, formant déjà, au bout de 12 heures, une belle pellicule superficielle.

Cultures sur gélose : rapide et abondant développement égal à celui des vibrions ordinaires.

Cultures sur pomme de terre : développement un peu faible sous forme d'une pellicule jaunâtre qui, avec le temps, devient d'une couleur brun intense.

Réaction indol-nitreuse : au bout de 24 heures, elle est déjà d'un rouge cerise; au bout de 48 heures elle est, comme dans le vibrion précédent, d'une couleur rouge fuchsine.

Action pathogène sur les animaux : à la dose de 1/6 de culture sur gélose, il tue les cobayes en 10-12 heures. Les vibrions qui se sont développés dans l'abondant exsudat péritonéal sont extrêmement caractéristiques. Ils apparaissent très longs, spirillaires, groupés ensemble en manière de buisson, formant de très élégants entrelacements. Le sang est toujours stérile. Ils ne sont pas pathogènes pour les pigeons.

Cobaye C.

8/V. gr. 289. Injection gastrique de 2 c. c. de toxine de Ghinda,
+ 2 c. c. de bicarbonate.

9/V. gr. 320. Injection gastrique de 3 c. c. de toxine de Ghinda,
+ 2 c. c. de bicarbonate.

10/V. gr. 300. Injection gastrique de 3 c. c. de toxine de Ghinda,
+ 3 c. c. de bicarbonate.

L'animal meurt 5 heures après la dernière injection.

Autopsie : masses intestinales un peu congestionnées. Gros intestin énormément distendu par l'abondant transsudat diarrhéique et par les gaz. La réaction de tout le contenu gastro-entérique est nettement alcaline.

Le contenu de l'intestin grêle est citrin, transparent, riche en flocons épithéliaux; le transsudat du gros intestin présente la même physionomie que celui qui a été décrit chez le cobaye A-B; le liquide brunâtre, extraordinairement riche en éléments cellulaires, semble une culture pure d'amibes et de spirilles de toute espèce.

Cultures : les solutions de gélatine-peptone,ensemencées avec le contenu intestinal, présentent déjà, au bout de 12 heures, une pellicule superficielle constituée par une culture, presque pure, de vibrions.

Les cultures sur plaques permettent d'isoler le

3^e VIBRION C. — *Morphologie* : bâtonnets mobiles, plus longs et plus incurvés que les précédents, ressemblant un peu, par leur minceur, aux bacilles tuberculeux.

Cultures en gélatine : bulle d'air caractéristique au bout de 36 heures, et développement typique avec liquéfaction, tout le long de la piqure.

Cultures dans les solutions de peptone-gélatine : formation rapide d'une pellicule superficielle, mince et résistante; le liquide ne se trouble presque aucunement.

Cultures sur gélose : rapide et abondant développement, non différent de celui des vibrions cholériques authentiques.

Cultures sur pomme de terre : développement assez abondant et rapide, sous forme d'une belle pellicule brunâtre luisante.

Réaction indol-nitreuse : au bout de 24 heures elle est plus forte encore que dans les vibrions A et B; au bout de 48 heures, elle apparaît d'un rouge fuchsine intense.

Action pathogène sur les animaux : ce vibron tue les cobayes en 16, 18 heures à la dose de 1/6 de culture de 24 heures sur gélose. Dans l'abondant exsudat péritonéal, contrairement à ce qui a lieu pour les vibrions A et B, on trouve, d'ordinaire, de rares vibrions sous forme de filaments très longs et contournés, ou de petites virgules très incurvées. Le sang reste stérile. Ils ne sont pas pathogènes pour les pigeons.

Cobaye D.

15/V. gr. 383. Injection gastrique de 2 c. c. de la toxine de Ghinda
+ 2 c. c. de bicarbonate.

18/V. gr. 400. Injection gastrique de 3 c. c. de la toxine de Ghinda + 3 c. c. de bicarbonate. L'animal meurt le jour suivant.

Autopsie : liquide citrin dans le péritoine. Masses intestinales peu congestionnées, mais fortement diarrhéiques et distendues. Intestin *grêle* rempli d'un transsudat dense, rosé, constitué presque totalement par des cellules épithéliales desquamées; *gros* intestin peu diarrhéique avec rares *amibes*, et quantité restreinte de *spirilles*.

Cultures : au bout de 18 heures, à la surface de deux des trois tubes de solution nutritiveensemencée avec le contenu de l'intestin grêle, apparaît la pellicule caractéristique, constituée par une culture pure de vibrions. Dans les cinq tubes ensemencés avec le contenu du gros intestin, il ne se forme aucune pellicule et, à l'examen microscopique, on constate l'absence de vibrions.

Avec les plaques de gélatine, on isole donc de l'intestin grêle, le

4^e VIBRION D. — *Morphologie* : petites virgules très mobiles, un peu grosses, difficilement colorables avec la fuchsine phéniquée ou avec le violet de gentiane.

Cultures en gélatine : développement le long de la piqûre avec liquéfaction et formation rapide de la bulle d'air habituelle.

Cultures dans la solution de gélatine-peptone : rapide apparition de la pellicule superficielle.

Cultures sur gélose : identiques aux précédentes.

Cultures sur pomme de terre : abondant et rapide développement d'une belle couche jaune brunâtre.

Réaction indol-nitreuse : au bout de 24 heures, elle est rose pâle; au bout de 48 heures, elle est rouge intense.

Action pathogène sur les animaux : la dose de 1/6 de culture de 24 heures sur gélose tue les cobayes en 7-8 heures. Dans l'exsudat péritonéal, les vibrions sont rares, filamenteux, minces, avec un grand nombre de courbures. Le sang reste toujours stérile. Les pigeons sont réfractaires.

Cobaye E.

2/VI. gr. 325. Injection gastrique de 2 c. c. de la toxine de Ghinda seule.

4/VI. gr. 330. Injection gastrique de 3 c. c. de la toxine de Ghinda seule.

6/VI. gr. 350. Injection gastrique de 3 c. c. de la toxine de Ghinda seule.

8/VI. gr. 360. Injection gastrique de 3,6 c. c. de la toxine cholérique susdite (= à 1 0/0 du poids du corps), et injection péritonéale simultanée de 2 c. c. de toxine typhique. L'animal meurt au bout de 24 heures.

Autopsie : masses intestinales extrêmement diarrhéiques. Intestin *grêle* très pâle, distendu, rempli d'un transsudat jaune grisâtre à réaction alcaline; l'estomac est également plein d'un liquide hémorragique à réaction fortement alcaline. Le *gros* intestin, énormément distendu, est rempli d'un liquide verdâtre à réaction alcaline.

L'intestin *grêle* contient une quantité innombrable de cellules plus ou moins dégénérées et un grand nombre de microbes, parmi lesquels quelques gros *spirilles* et quelques *amibes*; le *gros* intestin ressemble à une culture

d'amibes aux formes les plus variées, à mouvements protoplasmiques très actifs : présence des spirilles pléomorphes habituels. Le contenu de l'estomac et de l'intestin grêle est absolument privé de résidus alimentaires.

Cultures : du péritoine et du sang, on isole des colonies de *B. coli*. Dans les tubes de solution nutritive ensemencés avec le contenu du gros intestin, il ne se forme, au bout de 12 heures, aucune pellicule ; mais l'examen microscopique révèle la présence des vibrions. Au moyen des cultures plates en gélatine on isole, en effet, le

5^e VIBRION. E. — *Morphologie* : vibrions mobiles, flexueux, minces et peu colorables.

Cultures en gélatine : à plat, on obtient des colonies très liquéfiantes, avec petit noyau central et large zone transparente de liquéfaction. Dans les tubes on observe le développement avec liquéfaction le long de la piqure et formation de la bulle d'air caractéristique.

Cultures dans les solutions de gélatine-peptone : dans les 24 premières heures on n'observe ni la pellicule superficielle ni un trouble évident du liquide ; au bout de 48 heures, le liquide est déjà troublé et, à sa surface, apparaît un voile très mince et très délicat ; au bout de 3 jours la pellicule superficielle est complètement formée.

Cultures sur gélose : rapide et abondant développement.

Cultures sur pomme de terre : accroissement très modéré avec formation d'une légère pellicule superficielle jaune brunâtre.

Réaction indol-nitreuse : au bout de 24 heures elle est à peine visible ; au bout de 48 heures elle est d'un rouge écarlate.

Action pathogène sur les animaux : ce vibrion tue, en 8-12 heures, les cobayes de moyenne taille, à la dose d'environ 1/4 de culture de 24 heures sur gélose. Dans l'exsudat péritonéal, il se développe avec une abondance extraordinaire, sous forme de bâtonnets presque spirillaires, très incurvés, parfois filamenteux. Il ne passe pas dans le sang circulant et n'est pas pathogène pour les pigeons.

Cobaye F.

10/VI. gr. 320. Injection gastrique de 2 c. c. de toxine de Ghinda + 2 c. c. de bicarbonate.

11/VI. gr. 310. Inj. gastr. de 2 c. c. de tox. de Ghinda + 3 c. c. de bic.

13/VI. gr. 285. Inj. gastr. de 3 c. c. de tox. de Ghinda + 3 c. c. de bic.

L'animal meurt quelques heures après la dernière injection, présentant une abondante diarrhée et des crampes musculaires générales.

Autopsie : quantité restreinte de liquide dans le péritoine ; masses intestinales congestionnées et diarrhéiques ; l'intestin grêle est plein d'un transsudat très limpide, légèrement coloré en rose. La réaction est alcaline. Le gros intestin, excessivement distendu par l'abondant contenu diarrhéique et par des gaz, présente çà et là des taches hémorragiques. La réaction est, ici encore, nettement alcaline.

Le contenu de l'intestin grêle est représenté presque exclusivement par des éléments cellulaires desquamés et par des leucocytes, avec faible quan-

tité de microbes ; le contenu du *gros* intestin présente les mêmes caractères que ceux qui ont été observés dans les expériences précédentes, c'est-à-dire : énorme quantité d'*amibes*, d'éléments cellulaires et de vibrions.

Cultures : les liquides nutritifs ensemencés avec le contenu intestinal présentent déjà, au bout de 12 heures, une belle pellicule superficielle dont on isole le

6^e VIBRION G. — *Morphologie* : vibrions très mobiles, incurvés, virguli-formes, peu colorables.

Cultures en gélatine : développement régulier et liquéfaction le long de la piqûre, avec rapide formation de la bulle d'air superficielle.

Cultures dans les solutions de gélatine-peptone : rapide formation de la pellicule superficielle sans trouble du liquide.

Cultures sur gélose : rapides et abondantes.

Cultures sur pomme de terre : développement rapide et abondant avec production d'une belle pellicule brunâtre très foncée.

Réaction indol-nitreuse : au bout de 24 heures, elle apparaît d'une couleur rose ; au bout de 48 heures, elle est déjà d'un beau rouge fuchsine.

Action pathogène sur les animaux : ce vibrion tue en 6-8 heures les cobayes de moyenne taille à la dose de 1/4 de culture sur gélose de 24 heures. Dans l'exsudat péritonéal, il se développe à peu près comme le précédent. Il ne passe pas dans le sang et n'est pas pathogène pour les pigeons.

Cobaye G.

12/VII. gr. 380. Injection gastrique de 3 c. c. de toxine de Ghinda + 3 c. c. de bicarbonate.

14/VII. gr. 365. Même traitement.

15/VII. gr. 350. Même traitement.

L'animal meurt quelques heures après la dernière injection, présentant une énorme distension du ventre avec abondante diarrhée.

Autopsie : masses intestinales peu congestionnées, mais excessivement distendues ; intestin grêle, à réaction alcaline, distendu par un transsudat dense et transparent ; *gros* intestin dilaté par des gaz, contenant une énorme quantité de liquide diarrhéique, verdâtre, très ténu, à réaction alcaline.

L'intestin grêle contient, comme d'ordinaire, une très grande quantité de cellules épithéliales et de leucocytes, avec quelques microbes ; le contenu du *gros* intestin, au contraire, vu au microscope, semble presque un champ mouvant, à cause du nombre extraordinaire d'*amibes* de toutes formes et de toutes grandeurs !.

Au milieu de celles-ci, on trouve également, en grande quantité, les spirilles habituels.

Cultures : quelques liquides nutritifs, ensemencés avec le contenu de l'intestin grêle et du *gros* intestin, présentent déjà au bout de 24 heures une pellicule superficielle dont on isole le

1. J'appelle sur cette singulière trouvaille, qui représente la règle dans toutes les entérites toxiques des cobayes, l'attention des savants qui s'occupent d'éliminer le rôle étiologique des *amibes* dans la pathologie humaine, surtout au regard de certaines affections intestinales.

7^e VIBRION G. — *Morphologie* : petits vibrions virguliformes, très mobiles, très incurvés, peu colorables.

Cultures en gélatine : accroissement rapide tout le long de la piqure, avec production de la caractéristique bulle d'air superficielle.

Cultures dans les solutions de gélatine-peptone : formation rapide de la pellicule superficielle avec trouble très léger du liquide.

Cultures sur gélose : accroissement rapide et abondant.

Cultures sur pomme de terre : développement abondant et formation d'une belle couche jaunâtre.

Réaction indol-nitreuse : au bout de 24 heures, elle est d'un beau rose vif; au bout de 48 heures, elle apparaît, comme dans tous les autres vibrions, d'un rouge fuchsine très intense.

Action pathogène sur les animaux : ce vibron tue les cobayes en 12-14 heures, à la dose de 1/6 de culture sur gélose, de 24 heures. Il se développe très bien dans l'exsudat péritonéal, à peu près comme les autres, et n'envahit jamais le courant sanguin. Il n'est pas pathogène pour les pigeons.

Cobaye H.

9/VII. gr. 285. Injection gastrique de 3 c. c. de la toxine de Ghinda + 3 c. c. de bicarbonate.

10/VII. gr. 255. Même traitement.

L'animal meurt le jour suivant; poids du cadavre : gr. 235.

Autopsie : intestin grêle pâle, transparent, diarrhéique, à réaction alcaline. Le gros intestin est également pâle, peu distendu, mais plein d'un transsudat diarrhéique. Le contenu du premier est un liquide presque verdâtre, plein de cellules épithéliales desquamées : on en voit des lambeaux très étendus qui occupent parfois tout le champ du microscope; c'est un véritable amas de cellules cylindriques, la plupart encore bien conservées; un grand nombre de bactéries et aucune amibe. Le gros intestin apparaît, ainsi que d'ordinaire, comme le vrai paradis des amibes et des spirilles. On en voit de toutes formes et de toutes dimensions. Quelques spirilles sont très gros et doués d'un mouvement très lent; d'autres sont, au contraire, très minces, très mobiles, courts, arqués, en forme de virgule; d'autres, enfin, sont de longs spirilles doués d'un rapide mouvement spiral.

Cultures : on ensemence 3 tubes du contenu du gros intestin et 3 tubes du contenu de l'intestin grêle. Le matin du jour suivant, dans les 3 tubes de l'intestin grêle, on observe une belle et mince pellicule, complète, constituée par des vibrions, en culture pure. Des 3 tubes du gros intestin, deux seulement présentent un mince voile où se trouvent un grand nombre de vibrions. Au moyen des cultures plates en gélatine on isole le

8^e VIBRION H. — *Morphologie* : vibrions très mobiles, flexueux, minces, peu colorables; sans formes filamenteuses.

Cultures en gélatine : développement caractéristique avec liquéfaction le long de la piqure et production de la bulle d'air.

Cultures dans la solution de gélatine-peptone : au bout de 12 heures, il

s'est déjà formé une belle et résistante pellicule superficielle, sans trouble du liquide nutritif.

Cultures sur gélose : développement habituel, rapide et abondant.

Cultures sur pomme de terre : accroissement assez rapide avec formation d'une pellicule jaune brunâtre.

Réaction indol-nitreuse : au bout de 24 heures, elle apparaît d'une couleur rouge framboise; au bout de 48 heures, elle est, comme toutes les autres, rouge fuchsine très intense.

Action pathogène sur les animaux : ce vibrion tue les cobayes de moyenne grosseur, à la dose de 1/6 de culture de 24 heures sur gélose, en 8-12 heures.

Dans l'exsudat péritonéal, il se développe peu abondamment, prenant des formes filamenteuses très incurvées. Il ne passe jamais dans le sang circulant. Il n'est pas pathogène pour les pigeons.

Cobaye I.

12/VII. gr. 340. Injection gastrique de 3 c. c. de la toxine de Ghinda + 3 c. c. de bicarbonate.

14/VII. gr. 325. Inj. gastr. de 1 c. c. de tox. de Ghinda + 1 c. c. de bic.

16/VII. gr. 310. Inj. gastr. de 3 c. c. de tox. de Ghinda + 3 c. c. de bic.

L'animal meurt 4 heures après la dernière injection, avec diarrhée, régurgitation fécale par la bouche, crampes et forte distension du ventre.

Autopsie : Absence de liquide dans le péritoine; masses intestinales médiocrement injectées de sang. Intestin grêle, à réaction alcaline, fortement distendu par un transsudat diarrhéique d'aspect fécal; gros intestin plein de gaz et d'un liquide diarrhéique semblable à celui de l'intestin grêle, à réaction alcaline.

Le contenu de l'intestin *grêle* aussi bien que celui du *gros* intestin présentent les mêmes caractères macroscopiques et microscopiques.

Évidemment, dans ce cas, les forts mouvements antipéristaltiques de tout le canal digestif ont déterminé le passage du contenu du gros intestin jusqu'à l'estomac, d'où s'est produite ensuite la régurgitation par la voie de l'œsophage. On y observe, comme d'ordinaire, une grande quantité d'éléments épithéliaux, d'amibes et de vibrions.

Cultures : on ensemence divers tubes de solution de gélatine-peptone avec le contenu de l'estomac, de l'intestin grêle et du gros intestin.

Le jour suivant, on observe une belle pellicule dans deux tubes de l'estomac, dans un tube de l'intestin grêle et dans un du gros intestin.

Les cultures en surface sur gélatine mettent en évidence le

9^e VIBRION I. — *Morphologie* : vibrions mobiles, plus courts, plus gros et plus incurvés que les précédents; ils sont peu colorables.

Cultures en gélatine : développement et liquéfaction le long de la piqûre, avec formation de la bulle d'air superficielle.

Cultures dans les solutions de gélatine-peptone : au bout de 12 heures, il se forme une belle et résistante pellicule superficielle; le liquide sous-jacent n'apparaît presque pas trouble.

Cultures sur gélose : habituel développement rapide et abondant.

Cultures sur pomme de terre : accroissement abondant et rapide sous forme d'une belle pellicule brunâtre.

Réaction indol-nitreuse : au bout de 24 heures, elle est d'une couleur rouge cerise; au bout de 48 heures, elle apparaît rouge fuchsine très intense.

Action pathogène sur les animaux : ce vibron tue les cobayes en 12-14 heures, environ, à la dose de 1/4 de culture sur gélose de 24 heures.

Dans l'exsudat péritonéal, il se multiplie abondamment sous forme de virgules incurvées; on y observe rarement des formes filamenteuses. Il ne passe jamais dans le courant sanguin. Il n'est pas pathogène pour les pigeons.

Cobaye K.

18/VII. gr. 335. Injection gastrique de 3 c. c. de la toxine de Ghinda + 3 c. c. de bicarbonate.

19/VII. gr. 320. Même traitement.

L'animal meurt le lendemain de la dernière injection, présentant un fort météorisme abdominal.

Autopsie : masses intestinales fortement injectées; intestin grêle, efflanqué et distendu par une énorme quantité de transsudat dense et transparent, légèrement hémorragique. Le gros intestin est extraordinairement distendu par des gaz et du liquide; il est beaucoup plus volumineux que le gros intestin d'un lapin adulte.

Le contenu de l'intestin grêle démontre la présence d'une énorme quantité de cellules épithéliales, de leucocytes et de globules rouges, parmi lesquels on observe un grand nombre de microbes; le contenu du gros intestin présente la physionomie habituelle, qui a déjà été décrite dans les cas précédents; ici encore, on remarque une grande quantité d'amibes, de vibrions et d'éléments épithéliaux.

Cultures : les tubesensemencés avec le contenu intestinal démontrent, le jour suivant, la présence de diverses pellicules de vibrions.

Les cultures plates en gélatine mettent en évidence le

10^e VIBRION K. — *Morphologie* : vibrions mobiles, courts, tout à fait identiques aux précédents, mais beaucoup moins colorables avec les moyens ordinaires de coloration.

Cultures en gélatine : développement rapide avec liquéfaction tout le long de la piqûre, et production de la caractéristique bulle d'air superficielle.

Cultures dans les solutions de gélatine-peptone : au bout de 12 heures, on observe, à la surface du liquide, une pellicule belle et résistante, tandis que le liquide sous-jacent se maintient encore très limpide.

Cultures sur gélose : identiques aux précédentes.

Cultures sur pomme de terre : développement un peu tardif sous forme d'une pellicule jaunâtre luisante, laquelle, avec le temps, devient d'un brun très intense.

Réaction indol-nitreuse : au bout de 24 heures elle est d'un rouge framboise; au bout de 48 heures, elle apparaît d'un rouge bordeaux.

Action pathogène sur les animaux : ce vibron tue les cobayes de moyenne grosseur, en 10-12 heures, à la dose de 1/4 de culture de 24 heures sur gélose. Dans l'exsudat péritonéal, il se multiplie très peu abondamment, sous forme de bâtonnets, plus ou moins filamenteux et incurvés.

Il ne passe jamais dans le sang et n'est pas pathogène pour les pigeons.

Cobaye L.

24/VII, 10 h. m. Injection intraveineuse de 2 c. c. de la toxine de Paris filtrée.

24/VII, 11 h. m. Température rectale : 36°, 7'; 3 h. s. : 35°, 2'. On n'observe aucun météorisme abdominal, mais une paraplégie générale. L'animal se maintient cependant assez bien et ne présente aucun des caractères que l'on observe à la suite de l'injection péritonéale de virus ou de toxine cholérique. On constate seulement une sensibilité abdominale exagérée.

24/VII, 7 h. s. Température rectale : 35°, 6'; 11 h. s. : 35°, 7'.

Le lendemain matin on trouve le cobaye mort.

Autopsie : L'aspect que présente l'abdomen est identique à celui qu'on observe dans l'intoxication *ab ore* avec la toxine cholérique de Ghinda. L'intestin grêle est dilaté, congestionné et rempli de transsudat diarrhéique; le gros intestin, énormément dilaté, présente, sur quelques points, de larges taches ecchymotiques, son contenu est diarrhéique, alcalin, brunâtre. Dans l'intestin grêle on trouve une grande quantité d'éléments épithéliaux desquamés; on observe jusqu'à d'entières villosités qui conservent encore la forme primitive; dans le gros intestin on remarque des *amibes* et les *spirilles* habituels. Les poumons sont fortement congestionnés; la rate apparaît petite, noirâtre et facilement friable. Dans la cavité pleurale existe du transsudat citrin.

Cultures : les cultures du sang restent stériles, les cultures en solution de gélatine-peptone, du contenu intestinal, ne montrent la formation d'aucune pellicule; toutefois, dans quelques-unes d'entre elles, l'examen microscopique révèle la présence de vibrions. Les cultures plates en gélatine mettent, en effet, en évidence le

41° VIBRION L. — *Morphologie* : sur gélose apparaissent des vibrions très petits, très irréguliers, de diverses dimensions; quelques-uns semblent des *coccus*, d'autres sont un peu plus longs, plus gros, et prennent l'aspect de bactéries ordinaires; les cultures semblent presque contaminées. Tous ces vibrions se colorent très faiblement; dans les solutions de gélatine-peptone, ils apparaissent un peu plus minces, mais toujours petits et irréguliers.

Cultures en gélatine : développement très lent et mesquin le long de la pipère, sans liquéfaction de la gélatine.

Culture dans les solutions de gélatine-peptone : on obtient un développement très lent, sans formation de pellicule; le liquide reste un peu troublé, même après plusieurs jours de permanence dans l'étuve à 37° ou à la température du milieu.

Cultures sur gélose : le développement est régulier et diffus, mais beaucoup plus restreint que pour les autres vibrions.

Cultures sur pomme de terre : négatives.

Réaction indol-nitreuse : elle fait défaut même au bout de plusieurs jours. Toutefois, le réactif de Griess (acide sulfanilique + naphthylamine + acide acétique) révèle une grande quantité de nitrites. La réaction de Legal-Weyl (nitroprussiate de soude + hydrate sodique + acide acétique) révèle des traces minimes d'indol.

Action pathogène sur les animaux : ce vibron tue les cobayes en 6 heures, à la dose de 1 culture entière sur gélose de 24 heures; il tue en 24 heures à la dose de 1/2 culture. Les animaux présentent une péritonite exsudative très intense; l'exsudat est riche en vibrions, petits, trapus, peu incurvés, en forme de grosses virgules.

Les cultures du sang restent stériles. Les pigeons sont réfractaires.

Cobaye M.

10/VIII, gr. 330. Injection gastrique de 4 c. c. de la toxine de Paris (concentrée) + 3 c. c. de bicarbonate.

11/VIII, gr. 370. Le même traitement.

12/VIII, gr. 360. L'animal apparaît très malade et se trouve en proie à une très forte diarrhée un peu hémorragique. Il est assailli, à l'improviste, d'un violent accès de crampes et meurt.

Autopsie : très légère injection des masses intestinales; l'intestin grêle est pâle, d'aspect cireux, mais énormément dilaté, aminci et plein d'un transsudat riziforme dense et séreux; le gros intestin, dont les plaques lymphatiques apparaissent rougies et tuméfiées, est énormément dilaté et plein d'un liquide diarrhéique verdâtre. Le contenu de l'intestin grêle, composé d'un liquide transparent, de couleur citrine, riche en flocons muqueux, contient une grande quantité de virgules presque à l'état de culture pure. Dans les préparations colorées, elles apparaissent identiques à celles des déjections humaines; elles sont très grosses et incurvées.

Les cultures exécutées immédiatement, dans les solutions de gélatine-peptone, présentent, le jour suivant, une pellicule superficielle dont on isole, au moyen des cultures plates, le

12° VIBRION M. — *Morphologie* : vibrions très mobiles, un peu plus gros que les précédents, mais très incurvés.

Cultures en gélatine : développement à peu près identique à celui des autres vibrions.

Cultures dans les solutions de gélatine-peptone : la pellicule superficielle apparaît déjà au bout de 12 heures; le liquide sous-jacent se trouble très légèrement.

Cultures sur gélose : identiques aux précédentes.

Cultures sur pomme de terre : accroissement rapide et abondant sous forme d'une belle pellicule jaune brunâtre.

Réaction indol-nitreuse : très faible au bout de 24 heures, mais très marquée au bout de 48 heures.

Action pathogène sur les animaux : ce vibron tue les cobayes de 3-400 grammes à très petites doses, dont la limite minima n'a pas été bien

précisée. Un cobaye de 370 grammes mourut en 5 heures, à la suite d'une injection péritonéale de $\frac{1}{4}$ de culture sur gélose; un deuxième cobaye, de 200 grammes, mourut en 8 heures, après avoir reçu, dans le péritoine, 0,5 c. c. d'une culture en solution de peptone de 24 heures; un troisième cobaye, de 303 grammes, mourut à peu près dans le même temps, après avoir reçu 0,2 c. c. de la même culture en bouillon.

Dans ces cas, il ne passe jamais dans le sang, Il n'est pas pathogène pour les pigeons.

III

SIGNIFICATION BIOLOGIQUE DES VIBRIONS INTESTINAUX

En étendant ces recherches à un plus grand nombre de cobayes et à d'autres animaux, on aurait certainement fait une moisson plus variée, plus riche et plus intéressante. Mais les 12 vibrions que je me suis borné à isoler suffisent à nous donner, au sujet du concept unitaire du bacille virgule et de la théorie actuelle sur l'étiologie du choléra, des notions toutes différentes de celles qui ont cours.

Aucun bactériologiste ne pourrait sûrement différencier ces vibrions des vibrions des déjections cholériques, et je doute que dans aucun cas de choléra humain on ait vu un exsudat intestinal plus riche en virgules caractéristiques que celui du cobaye M, signalé plus haut, que je considère comme m'ayant présenté le cas le plus typique de mes recherches.

Quant aux réactions ordinaires de ces microbes, elles sont tellement prononcées que ce sont les vibrions cholériques authentiques qui, à ce point de vue, semblent atypiques ou dégénérés.

Des vibrions de diverses provenances que j'ai dans mon laboratoire et que j'ai bien étudiés, aucun n'a une action pathogène aussi marquée que le vibrion A. Pas plus pour lui que pour les autres, je n'ai recherché la dose minima mortelle, ce qui eût exigé une hécatombe d'animaux. Je me suis borné à étudier la rapidité avec laquelle la mort arrivait sous l'influence de proportions déterminées ($\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{6}$) de cultures sur gélose. C'est le vibrion A qui, toutes choses égales d'ailleurs, est le plus rapidement mortel. De plus, au cours de quelques vaccinations sur lesquelles je reviendrai tout à l'heure, j'ai vu que ce vibrion A est plus toxique que le vibrion de Ghinda et même celui de Ham-

bourg. Le vibron C, au contraire, bien que très pathogène, est le moins toxique de ceux que j'ai étudiés, et on vaccine très facilement les cobayes contre lui.

Mais ces microbes intestinaux ont surtout ceci de remarquable qu'ils donnent la réaction rouge avec une intensité supérieure à celle de tout autre vibron cholérique. Très marquée au bout de 24 heures, cette réaction colore le liquide, au bout de 48 heures, avec une telle intensité qu'on pourrait le confondre avec une solution de fuchsine à 1 et 2 0/0. Ces vibrions produisent donc, dans les solutions de peptone, beaucoup d'indol, comme on peut le démontrer aussi avec la réaction de Legal-Weyl, et réduisent activement les nitrates, comme le montre le réactif de Griess.

Tout en constatant que mes vibrions intestinaux l'emportent à ce point de vue sur les vibrions cholériques authentiques, il ne faut pas oublier que ce caractère est un peu flottant. Les vibrions de Rome et de Lisbonne ne donnent aucune réaction rouge ; celle des vibrions de Massouah est faible et difficile à mettre en évidence ; d'autre part, la plus grande partie de mes vibrions hydriques, non pathogènes, en sont presque complètement privés. Cette réaction indol-nitreuse ne peut donc nullement servir à une diagnose différentielle.

Les autres caractères de culture ne permettent pas non plus de séparer nos vibrions intestinaux des vibrions virgules : ils sont les mêmes dans leur ensemble, pour les uns et les autres : ainsi pour le pléomorphisme. Dans la solution de peptone, les vibrions isolés des déjections cholériques à Massouah, à Hambourg, à Lisbonne, à Rome, ne produisent pas tout de suite une pellicule superficielle. Il en est de même pour les vibrions intestinaux A, B, E, L ; le vibron E en donne une au bout de trois jours ; ceux de Massouah, de Hambourg et les vibrions A, B, L en donnent au bout de quatre jours, tandis que ceux de Lisbonne et de Rome n'en fournissent jamais. Cependant, après quelques passages par les animaux, le vibron A donne une pellicule au bout de 12 heures, et de même pour les autres.

Enfin, si nous passons à la morphologie, nous trouvons dans les vibrions cholériques authentiques des types plus variés que ceux de nos vibrions intestinaux. De sorte que, en résumé, il faut renoncer à la diagnose bactériologique du choléra telle qu'on la faisait autrefois.

Mais les recherches qui précèdent n'ont pas seulement pour effet de prouver qu'il n'y a aucun critérium différentiel entre les bacilles des épidémies et ceux de l'intestin : elles éclairent l'origine des premiers, qui semblait si mystérieuse. Elles font plus, elles ouvrent la question de la valeur spécifique qu'on doit accorder à ces vibrions intestinaux dans la pathologie humaine.

M. Metchnikoff a prouvé que les vibrions hydriques pouvaient devenir cholériques. S'ils sont les mêmes que les vibrions intestinaux, c'est en nous-mêmes, dans notre intestin ou celui des animaux domestiques, que nous devons rechercher l'origine des épidémies de choléra.

Cette conclusion est en parfait accord avec l'étude de quelques épidémies récentes, celle de Paris en 1892, celle que M. Treille a décrite dans la province de Constantine¹. Mais elle paraîtra suspecte aux partisans de l'origine exotique du choléra, qui récusent l'exemple d'autres microbes, hôtes habituels de notre organisme, capables pourtant, dans des circonstances déterminées, de développer de véritables épidémies de choléra-nostras. d'entérites infectieuses, de dysenterie, de pneumonie, etc. Les recherches de M. Metchnikoff sur la production d'un véritable choléra au moyen des vibrions hydriques sont venues développer dans une direction nouvelle les notions fournies dès 1887 par M. Hueppe², confirmées et élargies ensuite par MM. Macé et Simon³, Lesage⁴, Macaigne⁵, Gilbert et Girode⁶, sur l'étiologie des entérites infectieuses et du choléra-nostras.

Ces recherches ont montré que le *B. coli*, hôte habituel et inoffensif de notre intestin, peut acquérir la virulence et la contagiosité à la suite des troubles les plus variés de l'appareil digestif. Dans le cas de M. Hueppe, c'était une absorption excessive de bière fraîche qui avait provoqué une véritable attaque de choléra à *B. coli*; dans le cas de MM. Gilbert et Girode, c'était une consommation d'eau de Seine, et ainsi de suite.

Les lésions entériques qui donnent la virulence aux coli-

1. *Le Choléra africain dans la province de Constantine en 1893*; Alger 1894.

2. *Berl. Klin. Wochenschr.*, 1887, n°s 39-40.

3. *Revue Générale de clinique et de thérapeutique*; 1891 n° 49.

4. *Société de Biologie*, janvier 1892.

5. *Le B. coli commune, son rôle dans la pathologie*, Paris, 1892, p. 55.

6. Cité par M. Macaigne, *l. c.*, p. 63.

bacilles ¹ ne semblent pourtant pas capables de réveiller l'activité pathogène des bacilles cholériques intestinaux. Dans un cas seulement, après une violente intoxication obtenue par injection intraveineuse de toxine cholérique, nous avons pu isoler d'un cobaye, après 24 heures seulement de maladie, un vibron (L) moins pathogène. il est vrai, que les autres, plus rapproché de l'état saprophytique.

Pour que les désordres et les vibrions se rapprochent de ceux du vrai choléra, il faut, comme avec le cobaye M, déterminer, dans l'appareil digestif, un processus morbide d'une gravité exceptionnelle, par sa durée et par la nature des lésions anatomiques et fonctionnelles qu'il détermine.

Dans d'autres cas, la manifestation de propriétés pathogènes de la part des vibrions intestinaux est également explicable, suivant les dernières découvertes de M. Metchnikoff, lequel a trouvé que, dans l'intestin des animaux il existe, normalement, des microbes susceptibles de favoriser activement le développement et la virulence des vibrions cholériques.

Nous devons donc croire que la manifestation de propriétés pathogènes de la part des vibrions intestinaux normaux n'est possible qu'exceptionnellement, dans la nature, de même qu'elle n'a pu être qu'exceptionnellement mise en évidence dans les expériences de laboratoire et dans les cas cliniques rappelés plus haut.

IV

VACCINATIONS SPÉCIFIQUES ENTRE LES DIVERS VIBRIONS

Une fois démontrée l'impossibilité de différencier, d'une manière certaine, les vibrions hydriques des vibrions cholériques, se posait la question de savoir si les premiers pouvaient vacciner contre les seconds, et *vice versa*.

Quelques expériences anciennes ² m'avaient montré que la réciprocité vaccinale, par le péritoine, n'était pas constante non seulement entre vibrions hydriques et cholériques, mais même entre vibrions cholériques authentiques. Sur ces entrefaites, l'importance théorique de la vaccination cholérique, chez les cobayes, a beaucoup diminué depuis que les expériences de

¹ Voir à ce sujet mon mémoire inséré dans ces *Annales* 1894, p. 413.

² Ces *Annales*, 1893, p. 729.

M. Klein¹, confirmées par celles de Sobernheim², Issaëff³, Pfeiffer⁴, ont montré que l'injection intrapéritonéale ou sous-cutanée de microbes divers pouvait rendre les cobayes très résistants contre l'injection intrapéritonéale d'une dose mortelle de vibrions cholériques.

Nous reviendrons plus tard sur la signification des observations de Klein. Pour le moment, nous avons à nous arrêter sur un mémoire où MM. Pfeiffer et Issaëff⁵ indiquent le moyen de distinguer les vrais vibrions cholériques des faux.

Ce moyen est le suivant : Le sang des animaux rendus réfractaires contre une espèce microbique déterminée donne un sérum doué de propriétés immunisantes contre ce microbe. En conséquence, le sérum d'un cobaye vacciné contre un vibron cholérique authentique doit immuniser les cobayes contre tous les vibrions qui aspirent à être considérés comme cholérigènes, et lorsqu'un vibron, quelle que soit sa provenance, ne répond pas à cette condition *sine qua non*, il doit être exclu du nombre des facteurs étiologiques du choléra.

Il peut paraître surprenant de voir cette spécificité de l'action préventive surgir de nouveau, à propos du choléra, à un moment où s'accumulent les travaux qui lui font perdre le rang qu'elle avait pu espérer occuper dans la science : ceux de MM. Cesaris-Demel et Orlandi⁶, de M. Dunschman⁷, de MM. Pfeiffer et Issaëff⁸ eux-mêmes, qui ont trouvé le sérum de cheval normal aussi préventif contre les vibrions cholériques que celui des animaux vaccinés contre le choléra ; à un moment enfin où M. Roux⁹ nous a révélé les actions qu'exercent sur le venin du serpent les sérums des animaux protégés contre le tétanos et contre la rage.

La spécificité réciproque relative au choléra n'en eût pas moins constitué une découverte très précieuse si elle avait été réellement démontrée, sans restrictions et sans ambages. Je ne

1. *Centralbl. f. Bakt.*, 1893, p. 426.

2. *Hygienische Rundschau*, 1893, p. 22.

3. *Zeitschr. f. Hyg.*, 1892, p. 287.

4. *Ibidem*, 1894, p. 355.

5. *Ibidem*, 1894.

6. *Archivio p. l. Scienze Mediche*, 1893, n° 14.

7. *Ces Annales*, 1894, p. 203.

8. *L. c.*, p. 370.

9. *Ces Annales*, 1894.

m'arrêterai pas aux objections déjà faites à MM. Pfeiffer et Issaëff. En les entendant affirmer, par exemple, qu'on ne peut être sûr de la nature cholérigène d'un vibron que lorsqu'on l'a retiré du contenu intestinal d'un cholérique, durant une épidémie *étendue* de choléra, je me demande s'il y aurait des vibrions déterminant des épidémies étendues et d'autres des épidémies restreintes ou des cas isolés. Jusqu'ici le degré de gravité ou d'extension d'une épidémie n'avait été rattaché qu'à des différences dans l'influence des circonstances extérieures (auxquelles il faut joindre, depuis M. Metchnikoff, celle des microbes antagonistes et favorisants), ou bien à des différences de virulence dans les vibrions.

Cette dernière idée, que j'ai déjà explicitement énoncée dans une autre occasion, a été contestée par MM. Pfeiffer et Issaëff, mais elle a reçu une ample confirmation des faits. Aux épidémies bénignes de Paris, de Rome, de Lisbonne, correspondent autant de vibrions qui se distinguent de celui de la grave épidémie de Hambourg; le microbe de Massouah est devenu classique pour sa toxicité et sa morphologie, et M. Pasquale¹, qui l'a découvert, dans un puits de Ghinda, près Massouah, l'avait considéré dès l'origine comme tout à fait distinct de celui de M. Koch.

Au lieu d'accepter ces notions, MM. Pfeiffer et Issaëff, ayant trouvé que ce vibron de Ghinda tue les cobayes traités préventivement par le sérum d'un animal immunisé contre le vibron de Hambourg, lui dénie le caractère de vibron cholérique. Ils en font de même pour l'autre vibron dit de Massouah, isolé par M. Pasquale. Et pourtant, à l'aide du vibron de Ghinda, fourni par moi, M. Metchnikoff a obtenu un choléra intestinal typique chez les animaux, et M. Fermi a observé un cas de choléra très grave, suivi de guérison, chez un homme qui en avait ingéré spontanément une culture. M. Fermi publiera plus tard cette observation très caractéristique. Mais nous pouvons conclure tout de suite que le critérium de MM. Pfeiffer et Issaëff est en contradiction avec l'expérience, et qu'il y a des races diverses de vibrions cholériques inégalement virulents.

MM. Pfeiffer et Issaëff avaient comparé tous les vibrions au vibron de Hambourg, considéré comme typique, et c'était le sérum d'animaux vaccinés contre le vibron de Hambourg qui

1. *Giorn. medico del R^o esercito*, Roma, 1891.

leur servait à prononcer les admissions et exclusions. J'ai voulu étendre ces essais, et j'ai vacciné quelques séries de cobayes contre autant de races de vibrions de provenances variées. Puis j'ai essayé l'action préventive réciproque des divers sérums.

Pour les vaccinations, j'ai employé les vibrions suivants :

Vibrions isolés des déjections cholériques.

1^o V. de Hambourg ou de Pfeiffer, fourni par M. Metchnikoff;

2^o V. de Massouah, isolé par M. Pasquale, en 1890-1891 ;

3^o V. de Paris, trouvé par M. Netter, à Courbevoie, en 1892 ;

4^o V. de Cassino, tiré des déjections d'un cholérique à Cassino, en 1893.

Vibrions isolés des eaux.

5^o Vibrion de Ghinda, tiré par M. Pasquale des eaux d'un puits à Ghinda, et qui a fait le tour des laboratoires d'Europe, sous le nom de vibrion de Massouah. Il se développe en petites virgules minces, le plus souvent non filamenteuses, sur gélatine-peptone, gélose, là où le V. de Massouah donne de longs filaments. Avec ce dernier, la pellicule paraît au bout de 3 ou 4 jours, tandis qu'elle se forme en 24 heures avec le V. de Ghinda. En outre, l'auréole de liquéfaction autour des colonies sur gélatine est transparente avec le V. de Ghinda, trouble avec le V. de Massouah ;

6^o V. de Versailles, trouvé par moi en 1893, dans une fontaine publique de Versailles, et reconnu cholérigène pour l'homme par M. Metchnikoff.

Vibrions intestinaux des cobayes.

7^o Vibrion A, décrit plus haut, et trouvé dans l'intestin d'un cobaye à la suite d'une entérite toxique expérimentale.

La période de vaccination a duré 3 mois, du commencement de juin au commencement de septembre. On inoculait à diverses reprises, sous la peau des cobayes jeunes (les vieux sont moins résistants aux toxines), des cultures en bouillon stérilisées à la

chaleur. Ensuite on injectait sous la peau des cultures vivantes. Ces injections sous-cutanées sont indiquées quand on veut donner au sang des propriétés spécifiques, car elles permettent l'introduction de quantités de virus que n'aurait jamais supportées le péritoine.

Lorsque les animaux avaient reçu 2 ou 3 fois du virus vivant sous la peau, je commençais à inoculer dans le péritoine d'abord des cultures stérilisées, et ensuite, à plusieurs reprises, des cultures vivantes. C'est le sérum de ces animaux bien immunisés qui servait à procurer l'immunité aux cobayes contre les vibrions indiqués ci-dessus. On l'inoculait à la dose de 0,3 c. c., 0,5 c. c., 1 c. c. sous la peau d'autant de petits cobayes de 2 à 300 grammes, auxquels, au bout de 24 heures, on injectait, dans le péritoine, la dose *minima* mortelle du vibron contre lequel on voulait essayer la propriété immunisante du sérum. Cette dose minima, nécessaire pour tuer les cobayes en moins de 12 heures, fut différente pour les divers vibrions.

Pour le vibron de Hambourg, elle était de 1/4 de c. c. de culture de 24 heures sur gélatine-peptone; pour les vibrions de Massouah et de Ghinda, de 1/10 de culture de 24 heures sur gélose; pour les vibrions de Paris, de Cassino et de Versailles, de 1/6 de la même culture de 24 heures sur gélose; pour le vibron A, de 0,3 c. c. de la culture de 24 heures en solution de gélatine-peptone. Dans certains cas, comme on le verra dans les tableaux suivants, on a fait l'injection de sérums préventifs dans le péritoine en même temps que celle du virus.

SÉRIE I. — *Vibron cholérique d'Hambourg.*

| PROVENANCE du SÉRUM | N ^o des animaux | POIDS du CORPS | QUANTITÉ du SÉRUM injecté. | ENDROIT D'INJECTION | DATE de L'INFECTION | DOSE du VIRUS | RÉSULTATS |
|---|----------------------------------|----------------------|-------------------------------------|------------------------|---------------------------|---------------------|---------------|
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de Hambourg. | I | 290 | 0,3 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | 1/4 c.c. | Survécu. |
| | II | 310 | 0,5 — | — | — | — | — |
| | III | 265 | 1,0 — | — | — | — | — |
| | IV | 300 | 0,5 — | Péritoine. | Avec le sérum. | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de Ghinda. | I | 305 | 0,3 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | 1/4 c.c. | Survécu. |
| | II | 300 | 0,5 — | — | — | — | — |
| | III | 280 | 1,0 — | — | — | — | — |
| | IV | 235 | 0,5 — | Péritoine. | Avec le sérum. | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de Massouah. | I | 240 | 0,3 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | 1/4 c.c. | Survécu. |
| | II | 280 | 0,5 — | — | — | — | — |
| | III | 300 | 1,0 — | — | — | — | — |
| | IV | 255 | 0,5 — | Péritoine. | Avec le sérum. | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. intestinal A. | I | 310 | 0,3 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | 1/4 c.c. | Survécu. |
| | II | 280 | 0,5 — | — | — | — | — |
| | III | 245 | 1,0 — | — | — | — | — |
| | IV | 360 | 0,5 — | Péritoine. | Avec le sérum. | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de Cassino. | I | 370 | 0,3 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | 1/4 c.c. | Survécu. |
| | II | 285 | 0,5 — | — | — | — | — |
| | III | 300 | 1,0 — | — | — | — | — |
| | IV | 290 | 0,5 — | Péritoine. | Avec le sérum. | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de Paris. | I | 350 | 0,3 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | 1/4 c.c. | Survécu. |
| | II | 240 | 0,5 — | — | — | — | — |
| | III | 285 | 1,0 — | — | — | — | — |
| | IV | 300 | 0,5 — | Péritoine. | Avec le sérum. | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de Versailles. | I | 285 | 0,3 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | 1/4 c.c. | Survécu. |
| | II | 370 | 0,5 — | — | — | — | — |
| | III | 305 | 1,0 — | — | — | — | — |
| | IV | 290 | 0,5 — | Péritoine. | Avec le sérum. | — | — |
| Sérum de cobayes neufs. | I | 280 | 1,0 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | 1/4 c.c. | Mort en 12 h. |
| | II | 395 | 1,0 — | Péritoine. | Avec le sérum. | — | Mort en 24 h. |

SÉRIE II. — *Vibron cholérique de Massouah.*

| PROVENANCE du SÉRUM | N ^o des animaux | POIDS du CORPS | QUANTITÉ du SÉRUM injecté. | ENDROIT D'INJECTION | DATE de L'INFECTION | DOSE du VIRUS | RÉSULTATS |
|---|----------------------------------|----------------------|-------------------------------------|------------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------|
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de Hambourg. | I | 280 | 0,3 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | 1/10 de cul. sur gélose. | Mort en 12 h. |
| | II | 260 | 0,5 — | — | — | — | — |
| | III | 295 | 1,0 — | — | — | — | — |
| | IV | 300 | 0,5 — | Péritoine. | Avec le sérum. | — | Survécu. |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de Ghinda. | I | 270 | 0,3 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Mort en 12 h. |
| | II | 235 | 0,5 — | — | — | — | — |
| | III | 305 | 1,0 — | — | — | — | — |
| | IV | 290 | 0,5 — | Péritoine. | Avec le sérum. | — | Survécu. |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de Massouah. | I | 260 | 0,3 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Mort en 12 h. |
| | II | 240 | 0,5 — | — | — | — | Survécu. |
| | III | 295 | 1,0 — | — | — | — | — |
| | IV | 305 | 0,5 — | Péritoine. | Avec le sérum. | — | — |

| PROVENANCE du SÉRUM | N° des animaux | POIDS du CORPS | QUANTITÉ du SÉRUM injecté | ENDROIT D'INJECTION | DATE de L'INFECTION | DOSE du VIRUS | RÉSULTATS |
|---|----------------------|----------------------|------------------------------------|------------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------|
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. A. | I | 310 | 0,3 c. c. | Sous la peau. | 24 heures. | 1/10 de cul. sur gélose. | Mort en 18 h. |
| | II | 325 | 0,5 — | — | — | — | — |
| | III | 290 | 1,0 — | — | — | — | — |
| | IV | 340 | 0,5 — | Péritoine. | Avec le sérum. | — | Survécu. |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de Cassino. | I | 300 | 0,3 c. c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Mort en 24 h. |
| | II | 280 | 0,5 — | — | — | — | — |
| | III | 235 | 1,0 — | — | — | — | Survécu. |
| | IV | 315 | 0,5 — | Péritoine. | Avec le sérum. | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de Paris. | I | 290 | 0,3 c. c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Mort en 10 h. |
| | II | 285 | 0,5 — | — | — | — | — |
| | III | 310 | 1,0 — | — | — | — | Mort en 24 h. |
| | IV | 300 | 0,5 — | Péritoine. | Avec le sérum. | — | Survécu. |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de Versailles. | I | 350 | 0,3 c. c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Mort en 12 h. |
| | II | 335 | 0,5 — | — | — | — | — |
| | III | 290 | 1,0 — | — | — | — | — |
| | IV | 285 | 0,5 — | Péritoine. | Avec le sérum. | — | Survécu. |
| Sérum de cobayes <i>neufs</i> . | I | 305 | 1,0 c. c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Mort en 6 h. |
| | II | 340 | 1,0 — | Péritoine. | Avec le sérum. | — | — 5 h. |

SÉRIE III. — *Vibrien cholérique de Paris.*

| PROVENANCE du SÉRUM | N° des animaux | POIDS du CORPS | QUANTITÉ du SÉRUM injecté | ENDROIT D'INJECTION | DATE de L'INFECTION | DOSE du VIRUS | RÉSULTATS |
|---|----------------------|----------------------|------------------------------------|------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------|
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de Hambourg. | I | 270 | 0,4 c. c. | Sous la peau. | 24 heures. | 1/6 de cul. sur gélose. | Survécu. |
| | II | 295 | 0,5 — | — | — | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de Ghinda. | I | 310 | 0,3 c. c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Survécu. |
| | II | 280 | 0,5 — | — | — | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de Massouah. | I | 300 | 0,3 c. c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Mort en 12 h. |
| | II | 290 | 0,3 — | — | — | — | — |
| | III | 325 | 1,0 — | Péritoine. | Avec le sérum. | — | Survécu. |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. intestinal A. | I | 380 | 0,3 c. c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Survécu. |
| | II | 325 | 0,6 — | — | — | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de Cassino. | I | 275 | 0,2 c. c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Survécu. |
| | II | 290 | 0,5 — | — | — | — | Mort après 4 j. |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de Paris. | I | 340 | 0,4 c. c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Survécu. |
| | II | 310 | 0,6 — | — | — | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de Versailles. | I | 280 | 0,3 c. c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Survécu. |
| | II | 295 | 0,6 — | — | — | — | — |
| Sérum de cobayes <i>neufs</i> . | I | 310 | 0,5 c. c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Mort en 10 h. |
| | II | 290 | 1,0 — | Péritoine. | Avec le sérum. | — | — |

SÉRIE. IV. — *Vibron cholérique de Cassino.*

| PROVENANCE du SÉRUM | N° des animaux | POIDS du CORPS | QUANTITÉ du SÉRUM injecté. | ENDROIT de L'INJECTION | DATE de L'INFECTION | DOSE du VIRUS | RÉSULTATS |
|---|----------------------|----------------------|-------------------------------------|------------------------------|---------------------------|-----------------------------|------------------|
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de <i>Hambourg</i> . | I | 380 | 0,3 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | 1/6 de cult. sur gélose. | Survécu. |
| | II | 265 | 0,5 — | — | — | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de <i>Ghinda</i> . | I | 355 | 0,3 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Survécu. |
| | II | 260 | 0,5 — | — | — | — | Mort après 5 j. |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de <i>Massouah</i> . | I | 310 | 0,3 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Mort après 12 h. |
| | II | 340 | 0,5 — | — | — | — | — |
| | III | 295 | 0,5 — | Péritoine. | Avec le sérum. | — | Survécu. |
| | IV | 0 | 1,0 — | — | — | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. intestinal A. | I | 305 | 0,3 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Survécu. |
| | II | 300 | 0,6 — | — | — | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de <i>Cassino</i> . | I | 245 | 0,3 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Survécu. |
| | II | 280 | 0,5 — | — | — | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de <i>Paris</i> . | I | 290 | 0,3 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Mort après 4 j. |
| | II | 300 | 0,5 — | — | — | — | Survécu. |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de <i>Versailles</i> . | I | 325 | 0,3 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Survécu. |
| | II | 310 | 0,5 — | — | — | — | — |
| Sérum de cobayes <i>neufs</i> . | I | 260 | 0,5 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Mort en 8 h. |
| | II | 345 | 1,0 — | Péritoine. | Avec le sérum. | — | Mort en 12 h. |

SÉRIE V. — *Vibron hydrique de Ghinda.*

| PROVENANCE du SÉRUM | N° des animaux | POIDS du CORPS | QUANTITÉ du SÉRUM injecté | ENDROIT de L'INJECTION | DATE de L'INFECTION | DOSE du VIRUS | RÉSULTATS |
|---|----------------------|----------------------|------------------------------------|------------------------------|---------------------------|------------------------------|------------------|
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de <i>Hambourg</i> . | I | 275 | 0,4 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | 1/10 de cult. sur gélose. | Survécu. |
| | II | 260 | 0,6 — | — | — | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de <i>Ghinda</i> . | I | 220 | 0,3 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Mort après 6 j. |
| | II | 235 | 0,5 — | — | — | — | Survécu. |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de <i>Massouah</i> . | I | 340 | 0,3 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Mort en 12 h. |
| | II | 365 | 1,0 — | — | — | — | Mort après 6 j. |
| | III | 280 | 0,5 — | Péritoine. | Avec le sérum | — | Survécu. |
| | IV | 310 | 1,0 — | — | — | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. intestinal A. | I | 250 | 0,3 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Mort après 48 h. |
| | II | 325 | 0,5 — | — | — | — | Survécu. |
| | III | 300 | 0,5 — | — | — | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de <i>Cassino</i> . | I | 230 | 0,4 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Survécu. |
| | II | 275 | 0,4 — | — | — | — | — |

| PROVENANCE du SÉRUM | N° des animaux | POIDS du CORPS | QUANTITÉ du SÉRUM injecté | ENDROIT de L'INJECTION | DATE de L'INFECTION | DOSE du VIRUS | RÉSULTATS |
|---|----------------------|----------------------|------------------------------------|------------------------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------|
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de Paris. | I | 215 | 0,4 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | 1/10 de cml. sur gélose. | Survécu. |
| | II | 230 | 0,4 — | — | — | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de Versailles. | I | 280 | 0,4 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Survécu. |
| | II | 295 | 0,4 — | — | — | — | — |
| Sérum de cobayes neufs. | I | 320 | 0,5 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Mort après 8 h. |
| | II | 340 | 1,0 — | — | — | — | — 10 h. |

SÉRIE VI. — *Vibrio hydrique de Versailles.*

| PROVENANCE du SÉRUM | N° des animaux | POIDS du CORPS | QUANTITÉ du SÉRUM injecté. | ENDROIT de L'INJECTION | DATE de L'INFECTION | DOSE du VIRUS | RÉSULTATS |
|---|----------------------|----------------------|-------------------------------------|------------------------------|---------------------------|----------------------------|------------------|
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de Hambourg. | I | 260 | 0,3 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | 1/6 de cml. sur gélose. | Survécu. |
| | II | 295 | 0,5 — | — | — | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de Ghinda. | I | 340 | 0,4 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Survécu. |
| | II | 300 | 0,5 — | — | — | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de Massouah. | I | 315 | 4,0 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Mort après 24 h. |
| | II | 290 | 1,0 — | Péritoine. | Avec le sérum. | — | Survécu. |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. intestinal A. | I | 275 | 0,4 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Survécu. |
| | II | 260 | 0,4 — | — | — | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de Cassino. | I | 325 | 0,3 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Survécu. |
| | II | 285 | 0,5 — | — | — | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de Paris. | I | 290 | 0,3 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Survécu. |
| | II | 330 | 0,5 — | — | — | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de Versailles. | I | 315 | 0,4 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | — | Survécu. |
| | II | 310 | 0,4 — | — | — | — | — |
| Sérum de cobayes neufs. | I | 320 | 0,8 c.c. | Péritoine. | Avec le sérum. | — | Mort en 12 h. |
| | II | 320 | 1,0 — | Sous la peau. | 24 heures. | — | — |

SÉRIE VII. — *Vibrion intestinal A.*

| PROVENANCE du SÉRUM | N° des animaux | POIDS du corps | QUANTITÉ du sérum injecté. | ENDROIT de L'INJECTION | DATE de L'INFECTION | DOSE de VIRUS | RÉSULTATS |
|---|----------------------|----------------------|-------------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|---------------------|---|
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de <i>Hambourg</i> . | I II | 325 340 | 0,5 c. c. 0,5 — | Sous la peau. — | 24 heures. — | 0,3 c. c. — | Survécu. — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de <i>Ghinda</i> . | I II | 300 230 | 0,5 c. c. 0,5 — | Sous la peau. — | 24 heures. — | 0,3 c. c. — | Survécu. — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de <i>Massouah</i> . | I II III | 320 290 275 | 0,5 c. c. 0,5 — 0,5 — | Sous la peau. — Péritoine. | 24 heures. — Avec le sérum. | 0,3 c. c. — — | Mort en 12 h Survécu. Mort après 5 j. |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. intestinal A. | I II | 345 260 | 0,5 c. c. 0,5 — | Sous la peau. — | 24 heures. — | 0,3 c. c. — | Survécu. — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de <i>Cassino</i> . | I II | 380 315 | 0,5 c. c. 0,5 — | Sous la peau. — | 24 heures. — | 0,3 c. c. — | Survécu. — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de <i>Paris</i> . | I II | 260 290 | 0,5 c. c. 0,5 — | Sous la peau. — | 24 heures. — | 0,3 c. c. — | Survécu. — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de <i>Versailles</i> . | I II | 320 285 | 0,5 c. c. 0,5 — | Sous la peau. — | 24 heures. — | 0,3 c. c. — | Survécu. — |
| Sérum de cobayes <i>neufs</i> . | I II | 340 555 | 1,0 c. c. 1,0 — | Sous la peau. Péritoine. | 24 heures. Avec le sérum. | 0,3 c. c. — | Mort en 12 h — |

Les résultats qui ressortent de ces tableaux nous empêchent d'insister. On voit que le sérum de cobayes vaccinés contre des vibrions de provenances variées est doué indistinctement de propriétés préventives contre tous les vibrions expérimentés.

Un seul semble faire exception à la règle : celui de Massouah. Mais, même là, c'est seulement une question de degré. S'il n'est très préventif nulle part (sauf dans les séries V et VII), lorsqu'il est inoculé 24 heures auparavant sous la peau, il l'est lorsqu'on l'injecte dans le péritoine en même temps que le virus.

Les autres sérums ne se sont pas montrés non plus préventifs contre le vibrion de Massouah, sauf quand ils étaient injectés dans le péritoine en même temps que le virus. Les causes de cette différence entre le V. de Massouah et les autres nous échappent pour le moment, mais nous n'en voyons pas moins que le critérium proposé par MM. Pfeiffer et Issaëff est inexact, car il nous force à exclure du cercle des vibrions cholérigènes celui de

Massouah, et nous oblige à y admettre le vibron A de l'intestin du cobaye normal.

Une dernière remarque ressort de la comparaison des expériences que MM. Pfeiffer et Issaëff d'un côté, et moi de l'autre, avons faites avec les vibrions de Hambourg et de Ghinda.

MM. Pfeiffer et Issaëff ont trouvé que le sérum des animaux vaccinés contre le premier n'était pas préventif pour le second, tandis que j'ai vu, à diverses reprises, non seulement que les deux sérums et les deux vibrions ont des propriétés vaccinales réciproques, mais encore que le sérum d'autres vibrions cholériques authentiques, comme ceux de Paris et de Cassino, vaccinent contre le vibron de Ghinda et réciproquement.

Pour expliquer cette contradiction, il faut, ou que MM. Pfeiffer et Issaëff aient confondu le vibron hydrique de Ghinda avec le vibron fécal de Massouah, ou que le sérum qu'ils ont employé eût une insuffisante activité préventive.

Cette dernière hypothèse est d'accord avec ce fait que MM. Pfeiffer et Issaëff considéraient leurs animaux comme immunisés quand ils pouvaient supporter l'injection intrapéritonéale d'une dose mortelle de virus de Hambourg, dose qui, nous l'avons vu, est toujours très faible: Mais nous verrons bientôt que cette injection intrapéritonéale ne verse pas dans l'organisme une dose de toxine suffisante pour rendre le sang énergiquement préventif, et MM. Pfeiffer et Issaëff ont vu eux-mêmes qu'un cobaye pouvait tolérer dans son péritoine une dose mortelle de vibrions cholériques sans que son sérum devienne vaccinant.

C'est que la vaccination péritonéale des cobayes contre la péritonite vibrionienne est un phénomène d'accoutumance locale, qui ne reste pas absolument lié à la vaccination générale et aux modifications spécifiques des humeurs de l'organisme.

C'est pour cela que j'ai toujours commencé par des injections sous-cutanées la vaccination de mes cobayes, qui pouvaient être considérés comme parfaitement vaccinés, et les différences entre les résultats de MM. Pfeiffer et Issaëff et les miens, surtout relativement à un vibron aussi toxique que celui de Massouah, peuvent peut-être s'expliquer par la différence d'activité des sérums préventifs employés aux expériences.

V

EXTENSION DES PROPRIÉTÉS PRÉVENTIVES RÉCIPROQUES DES SÉRUMS

Arrivé en ce point, et en songeant aux résultats de M. Roux auxquels j'ai fait allusion plus haut, je devais me demander si les propriétés préventives du sérum pris sur des animaux vaccinés n'étaient pas un phénomène plus général et moins spécifique qu'on ne l'a cru jusqu'ici.

SÉRIE VIII. — *Vibrio Metchnikovi*.

| PROVENANCE du SÉRUM | N ^o des animaux | POIDS du CORPS | QUANTITÉ du SÉRUM injecté. | ENDROIT de L'INJECTION | DATE de L'INFECTION | DOSE DU VIRUS (Sous la peau | RÉSULTATS |
|---|----------------------------------|----------------------|-------------------------------------|------------------------------|---------------------------|--------------------------------------|------------------|
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de <i>Hambourg</i> . | I | 345 | 0,5 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | 0,2 c.c. | Mort en 12-18 h. |
| | II | 260 | 1,0 — | — | — | — | — |
| | III | 290 | 1,0 — | — | — | — | — |
| | IV | 345 | 1,0 — | — | Avec le sérum. | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de <i>Ghinda</i> . | I | 300 | 0,3 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | 0,2 c.c. | Mort en 12-18 h. |
| | II | 330 | 1,0 — | — | — | — | — |
| | III | 230 | 1,0 — | — | Avec le sérum. | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de <i>Massouah</i> . | I | 320 | 1,0 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | 0,2 c.c. | Mort en 12-18 h. |
| | II | 315 | 1,0 — | — | Avec le sérum. | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. intestinal A. | I | 280 | 1,0 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | 0,2 c.c. | Mort en 12-18 h. |
| | II | 325 | 1,0 — | — | Avec le sérum. | — | — |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de <i>Cassino</i> . | I | 290 | 0,5 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | 0,2 c.c. | Mort en 12-18 h. |
| | II | 270 | 1,0 — | — | — | — | — |
| | III | 300 | 1,0 — | — | — | — | Mort en 24 h. |
| | IV | 320 | 0,5 — | — | Avec le sérum. | — | Mort en 12-18 h. |
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. de <i>Paris</i> . | I | 265 | 1,0 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | 0,2 c.c. | Mort en 12-18 h. |
| | II | 280 | 1,0 — | — | Avec le sérum. | — | — |
| Sérum de cobayes <i>neufs</i> . | I | 295 | 1,0 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | 0,2 c.c. | Mort en 12-18 h. |
| | II | 340 | 1,0 — | — | Avec le sérum. | — | — |

On sait que M. Weibel¹ d'un côté, MM. Pfeiffer et Issaëff de l'autre, se trouvaient en désaccord au sujet de la vaccination réciproque entre le vibrion cholérique et le *V. Metchnikovi*, le premier soutenant qu'elle existe, les autres, qu'elle n'existe pas. Comme on peut le voir dans les tableaux (VIII et VIII bis) j'ai voulu m'assurer aussi de la valeur de ce dernier caractère différentiel, et j'ai entrepris des expériences semblables aux précédentes, en employant le *V. Metchnikovi* authen-

1. *Archiv. f. Hyg.*, 1894, p. 22.

tique, comme M. Weibél, MM. Pfeiffer et Issaëff avaient employé, de leur côté, un vibrion trouvé récemment (août 1893) par M. Pfuhl¹ dans l'eau de la Sprée, et que, d'après certains caractères morphologiques, et d'après son action pathogène sur les cobayes et les pigeons, on avait identifié avec le vibrion isolé à Odessa, en 1888, par M. Gamaleia.

SÉRIE VIII *bis*. — *Vibrion cholérique de Hambourg.*

| PROVENANCE du SÉRUM | N ^o des animaux | POIDS du corps | QUANTITÉ du SÉRUM injecté. | ENDROIT de L'INJECTION | DATE de L'INFECTION | DOSE DU VIRUS (Péritoine) | RÉSULTATS |
|---|----------------------------------|----------------------|-------------------------------------|------------------------------|---------------------------|---------------------------------|--------------|
| Sérum de cobayes vaccinés contre le v. <i>Metchnikovi</i> . | I | 310 | 0,5 c. c. | Sous la peau. | 24 heures. | 0,5 c. c. | Survécu. |
| | II | 250 | 0,5 — | — | — | — | — |
| | III | 275 | 1,0 — | — | — | — | — |
| | IV | 325 | 1,0 — | — | — | — | — |
| | V | 300 | 0,5 — | — | Avec le sérum. | — | — |
| Sérum de cobayes neufs. | I | 345 | 1,0 c. c. | Sous la peau. | 24 heures. | 0,5 c. c. | Mort en 7 h. |

On voit nettement que le sérum des cobayes vaccinés contre le vibrion aviaire a une action préventive nette contre ce même vibrion de Hambourg employé par MM. Pfeiffer et Issaëff.

Au contraire le sérum des cobayes vaccinés contre les autres vibrions cholériques, hydriques ou intestinaux ne semble nullement préventif à l'égard du vibrion aviaire, pas même lorsqu'il est inoculé sous la peau en même temps que le virus. Mais je ne vois toujours là qu'une question de *degré d'activité*. L'activité pathogène, toxique, et par conséquent vaccinante, des divers vibrions cholériques est inférieure à celle du *V. Metchnikovi*. L'activité préventive des sérums doit suivre la même marche, et dès lors, la vaccination peut se faire dans un sens et pas dans l'autre, du *V. Metchnikovi* pour les vibrions cholériques, mais non inversement.

Du reste, cette question de la non spécificité des sérums vaccinnants m'a paru d'ailleurs suffisamment résolue par une dernière série d'expériences dans lesquelles j'ai étudié le pouvoir vaccinant, vis-à-vis du vibrion de Hambourg, du sérum des cobayes vaccinés et d'un lapin hypervacciné contre le bacille

1. *Zeitschr. f. Hyg.*, 1894, p. 234.

typhique¹. Ces sérums étaient conservés depuis un an à l'obscurité, dans des tubes scellés à la lampe, et voici les résultats qu'ils m'ont fournis.

SÉRIE IX. — *Vibrion cholérique de Hambourg.*

| PROVENANCE du SÉRUM | No des animaux | POIDS du CORPS | QUANTITÉ du SÉRUM injecté | ENDROIT de L'INJECTION | DATE de L'INFECTION | DOSE du VIRUS | RÉSULTATS |
|--|----------------------|----------------------|------------------------------------|------------------------------|---------------------------|---------------------|--------------------|
| Sérum de cobayes vaccinés contre le bacille typhique. | I | 265 | 1,0 c.c. | Sous la peau. | 24 heures. | 0,5 c.c. | Mort après 12 h. |
| | II | 290 | 1,0 — | — | — | — | — 48 h. |
| | III | 310 | 0,5 — | — | — | — | — 20 h. |
| | IV | 240 | 1,0 — | Péritoine. | Avec le sérum. | — | — 12 h. |
| | V | 325 | 0,5 — | — | — | — | — 12 h. |
| Sérum d'un lapin hyper vacciné contre le bacille typhique. | I | 275 | 1,0 — | Sous la peau. | 24 heures. | 0,5 c.c. | Survécu. |
| | II | 290 | 1,0 — | — | — | — | Mort après 6 jours |
| | III | 230 | 0,5 — | — | — | — | Survécu. |
| | IV | 235 | 0,5 — | — | — | — | — |
| | V | 220 | 0,5 — | — | — | — | — |
| | VI | 315 | 0,5 — | Péritoine. | Avec le sérum. | — | — |
| Sérum de lapin neuf. | I | 250 | 1,0 — | Sous la peau. | 24 heures. | 0,5 c.c. | Mort en 16 h. |
| | II | 265 | 1,0 — | Péritoine. | Avec le sérum. | — | — 24 h. |
| Sérum de cob. neuf. | III | 255 | 1,0 — | — | — | — | — 16 h. |

On voit que le sérum d'animaux vaccinés contre le bacille d'Eberth est immunisant vis-à-vis des vibrions de Hambourg, au moins avec le lapin hypervacciné. Quant à celui des cobayes, peut-être avait-il perdu un peu de son activité; peut-être les cobayes étaient-ils insuffisamment vaccinés.

En tous cas, il reste établi que le sérum d'animaux vaccinés contre un microbe pathogène peut non seulement être doué de propriétés immunisantes vis-à-vis des variétés de la même espèce de microbes, comme cela est le cas pour les vibrions cholériques, mais encore vis-à-vis de microbes d'espèces différentes.

La diagnose bactériologique du vibrion cholérique basée sur l'emploi de ces sérums est donc une pratique sans garantie.

VI

LA PÉRITONITE CHOLÉRIQUE EXPÉRIMENTALE ET SON ACCOUTUMANCE

La découverte du bacille virgule a fait entrer dans une voie nouvelle nos idées sur le choléra. Les vibrions cholériques, dit

1. V. ces *Annales*, 1894, p. 378.

M. Koch¹, fabriquent, dans l'intestin, un poison puissant qui est absorbé par l'organisme, et détermine la manifestation des graves et caractéristiques symptômes qui composent le tableau clinique du choléra asiatique. Tout récemment, M. Gaffky, à Wiesbaden, soutenait que le choléra était un empoisonnement du sang provoqué par la diffusion du poison intestinal, quelque chose d'analogue au tétanos et à la diphtérie. C'est là un point de vue qui mérite d'être étudié de près. Les empoisonnements par voie intestinale peuvent quelquefois résulter d'une action tout à fait locale (alcalis, acides, drastiques, etc.), quelquefois produire une intoxication générale, et tel paraît être le cas pour le choléra.

Toutefois, comme le vibrion cholérique ne pénètre jamais, ou seulement en proportions négligeables dans les organes, la fabrication de la toxine est localisée dans l'intestin, et dès lors, il y a à se demander pourquoi, en pénétrant dans l'organisme, elle n'y éveille aucune des réactions habituelles, par exemple, aucun symptôme fébrile, même pendant la période prodromique.

L'inoculation sous-cutanée du poison ou du virus cholérique, amène chez le cobaye une élévation de température fugace si la dose est rapidement mortelle, plus longue lorsque l'animal peut réagir et survivre. Or, le choléra a au contraire un cours nettement apyrétique, et, même dans les cas suivis de guérison, ou ceux qui ont été précédés de symptômes prodromiques prolongés, il n'y a pas de mouvement fébrile saisissable, ou, quand il y en a un, on est en droit de l'attribuer à la pénétration dans le sang du vibrion ou de quelque autre microbe intestinal.

On ne trouve pas davantage, après la guérison, les traces ordinaires du passage du poison microbien par l'organisme, je veux dire l'immunité contre une attaque nouvelle, se traduisant par une action préventive ou thérapeutique du sang de l'animal guéri. C'est ce qui résulte des recherches de M. Metchnikoff, qui n'a pas trouvé la propriété préventive du sérum plus développée chez les malades guéris du choléra que chez ceux qui ne l'avaient jamais eu².

L'absence de la réaction fébrile pendant la maladie, et de toute propriété préventive dans le sérum après la guérison chez l'homme, ne plaident donc pas en faveur d'un empoisonnement

1. *Fortschr. d. Medizin*, 1884, p. 431, 452.

2. V. ces *Annales*, t. VII, p. 403.

général et aigu de l'organisme. Pour les animaux, les variétés de formes morbides sont telles, qu'on risque de s'égarer, si on ne spécifie pas.

Commençons par ce qui est considéré aujourd'hui comme la maladie cholérique classique des animaux, je veux dire l'infection intrapéritonéale des cobayes. On sait que les vibrions injectés ne se multiplient guère, qu'il n'est pas nécessaire qu'ils soient vivants, puisque, aux mêmes doses, des virus stérilisés produisent à peu près les mêmes effets; enfin, que la dose mortelle sous le péritoine est à peu près inoffensive sous la peau.

Aussi les avis sont-ils partagés sur le mécanisme de l'action : Pour les uns, il s'agit d'une infection; pour d'autres, d'une intoxication; pour d'autres enfin, d'un processus mixte, d'une toxo-infection.

Il est bien plus probable qu'il s'agit d'une simple péritonite, comme M. Metchnikoff¹ l'a dit le premier. En effet M. Klein avait vu² qu'on pouvait vacciner des animaux contre les vibrions cholériques à l'aide d'injections péritonéales de microbes non pathogènes (*proteus*, *b. typhi*, *b. coli*, *b. prodigiosus*, etc.) et ses résultats avaient été confirmés par Sobernheim³. Plus tard, Issaëff⁴ montra qu'on pouvait arriver au même résultat avec du bouillon, de l'urine, et même avec la solution physiologique de sel marin. En outre, il observa ce fait curieux qu'un cobaye vacciné est encore réfractaire au choléra alors que son sang a perdu tout pouvoir vaccinant. Il explique cette espèce d'immunité locale en signalant l'intervention, dans la muqueuse enflammée, de leucocytes phagocytaires.

La leucocytose n'aurait dans ce cas rien de spécifique, et ne serait que l'application du moyen général de défense de l'organisme. J'ai cependant observé qu'elle est impuissante à sauver l'animal quand, après l'avoir provoquée par du sel marin, de l'urine ou de l'acide lactique, on fait arriver sur le péritoine, non pas des vibrions cholériques, mais des bacilles typhiques. Cette leucocytose non spécifique n'est donc même pas toujours protectrice, et la cause principale de la résistance du péritoine contre les vibrions cholériques doit être cherchée ailleurs.

1. Ces Annales, t. VII, p. 257.

2. Centralbl. f. Bakt., 1893, p. 426.

3. Hygienische Rundschau, 1893, p. 22.

4. Zeitschr. f. Hyg., 1893, p. 287.

J'ai déjà fait voir¹ que l'accoutumance peut rendre l'intestin des cobayes tout à fait insensible à la toxine typhique, qui a précisément sur lui une action élective très marquée. J'ai montré en outre que cette accoutumance n'a pas de caractère spécifique, et peut être obtenue par des moyens très divers. Les analogies avec l'accoutumance péritonéale vis-à-vis des vibrions cholériques s'imposaient donc à l'esprit, et la question se posait d'habituer le péritoine, par un moyen quelconque, à supporter une dose mortelle *minima* de vibrions.

J'avais trouvé, il est vrai, que cette accoutumance n'était pas protectrice contre l'inoculation des bacilles typhiques dans le péritoine ; mais ceux-ci s'y multiplient, et produisent rapidement des doses mortelles de toxine. Il se pouvait qu'il en fût autrement avec les vibrions cholériques, qui ne se multiplient presque pas dans le péritoine, et où leur action se borne à produire une péritonite vulgaire.

Avec cette idée, on comprend qu'un processus inflammatoire quelconque, obtenu préalablement, soit par l'injection directe dans le péritoine de sérum normal, d'urine, d'acide lactique, etc., soit par l'inoculation sous-cutanée de poisons microbiens, qui exercent une action inflammatoire-toxique sur la cavité abdominale, suffise à rendre tolérable un processus péritonitique ultérieur, qui, autrement, aurait pu être mortel.

Ainsi s'expliquerait le fait signalé par M. *Issaëff*, de ces cobayes vaccinés, dont le sang a perdu tout pouvoir préventif, et qui résistent néanmoins aux injections intrapéritonéales de vibrions cholériques.

Mes expériences n'ont, du reste, laissé aucun doute sur la vraisemblance de cette interprétation.

J'ai, en effet, obtenu cette accoutumance péritonéale des cobayes aux vibrions ou, comme l'appelle M. *Klein*, cette vaccination anticholérique, non seulement au moyen de la simple injection sous-cutanée du poison putride, mais encore avec une substance chimique bien définie : le chlorhydrate de muscarine.

On sait que les produits de la putréfaction, aussi bien que les sels de muscarine, injectés dans l'organisme, agissent d'une manière particulière sur la cavité péritonéale et sur les intestins, y déterminant de graves processus inflammatoires, de nature

1. Ces *Annales*, t. VII, p. 357.

toxique, qui peuvent aller jusqu'à la complète desquamation de l'épithélium intestinal, et par conséquent jusqu'à une intoxication générale accompagnée d'une entéro-péritonite mortelle.

Mais si, pendant plusieurs jours de suite, on inocule, sous la peau des cobayes, une dose tolérable (2 c. c.) d'une infusion putride de viande stérilisée, la cavité abdominale de ces animaux, d'abord plus ou moins gravement atteinte, commence peu à peu à supporter, sans troubles ultérieurs, les injections successives du poison putride.

Au bout de 15-20 jours de ce traitement, le péritoine des cobayes est toujours en état de tolérer une dose mortelle de vibrions de Massouah, vivants ou morts.

On peut obtenir le même résultat avec la muscarine. Le chlorhydrate de muscarine, à la dose de 40 milligrammes, tue, en quelques heures, tout cobaye de taille moyenne, en déterminant les graves lésions de la cavité abdominale que j'ai déjà comparées, ailleurs, à celles qui sont produites par la toxine du bacille d'Eberth ¹.

Cependant, si on injecte, à plusieurs reprises, sous la peau, 5 milligrammes de la même substance, chaque fois à un intervalle de deux ou trois jours, les animaux peuvent tolérer ce traitement pendant très longtemps.

Ainsi, par exemple, je suis arrivé, dans l'espace de 20 jours, à faire tolérer à un cobaye la dose énorme de 60 milligrammes de chlorhydrate de muscarine.

D'abord, les animaux, comme cela a lieu dans tout autre cas, maigrissent rapidement, non seulement par l'effet de l'intoxication générale, mais encore à la suite des lésions intestinales qui troublent extrêmement le processus mécanique et chimique de la digestion des aliments.

Toutefois, en suspendant le traitement, peu à peu les cobayes finissent par se rétablir, et alors la cavité abdominale non seulement est en état de résister aux lésions toxiques, si graves et si caractéristiques, produites aussi par la toxine typhique, mais elle tolère impunément une dose mortelle d'une culture vivante ou morte de vibrions cholériques.

Comme on le voit donc, dans ces cas, on ne peut parler ni de vaccination générale, ni de vaccination locale ; c'est pourquoi

1. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1894, p. 529.

la vaccination anticholérique de M. Klein se réduit simplement à un *phénomène d'accoutumance locale, sans aucune signification spécifique*.

VII

L'ENTÉRITE CHOLÉRIQUE EXPÉRIMENTALE

La péritonite cholérique des cobayes, malgré son imposant cortège symptomatologique, n'a évidemment aucune analogie avec le choléra humain, qui est réellement d'origine intestinale. Toutes les tentatives de Koch et de son école pour reproduire chez les animaux un processus analogue n'ont donné que des résultats nuls ou douteux, et c'est M. Metchnikoff qui a réussi le premier¹, par une méthode originale, à provoquer à coup sûr, chez les lapins encore à la mamelle et chez les cobayes nouveau-nés, un choléra intestinal typique.

Au moment de l'apparition de ce travail, j'avais perdu depuis longtemps l'espoir d'obtenir quelque succès par les méthodes ordinaires, et j'avais essayé l'action favorisante d'un produit microbien, dont les effets sur l'organisme des cobayes m'étaient bien connus, la toxine typhique.

J'ai mentionné brièvement plus haut les résultats qu'on obtient à la suite de l'injection péritonéale de cette toxine, chez des cobayes ayant reçu dans l'estomac une abondante émulsion de vibrions cholériques dans une solution de bicarbonate de sodium. Le processus morbide, produit dans ces conditions, mérite d'être étudié de près.

Comme je l'ai dit plus haut, ma toxine typhique n'était mortelle, pour les cobayes de 300 à 400 grammes, qu'à la dose de 8 c. c. Avec 2 c. c. dans le péritoine, on ne produisait qu'un malaise passager ; mais si, simultanément ou aussitôt après, on injectait 3 cultures sur gélose de vibrions cholériques, en suspension dans 3 c. c. de solution de bicarbonate de soude, ces animaux succombaient en quelques heures, présentant le tableau intestinal caractéristique que j'ai mentionné au commencement de ce mémoire.

Outre cela, si l'on employait, comme virus cholérique, le vibron de Ghinda, on observait toujours à l'autopsie sa diffusion

1. Ces *Annales*, 1894, p. 209.

dans le sang; mais, avec le vibron de Paris (1892), la lésion restait localisée dans l'intestin, et les cultures du sang et du péritoine étaient stériles. La mort des animaux pouvait donc aussi être obtenue exclusivement comme conséquence du seul processus intestinal.

De quelle nature pouvait être ce processus?

Comme j'ai déjà dit que, dans ce cas, il ne se produit d'ordinaire, dans l'intestin, aucune multiplication importante des vibrions, et que je suis parvenu ensuite à obtenir les mêmes résultats en injectant dans l'estomac, non plus les cultures vivantes, mais les cultures stérilisées, même sans adjonction de bicarbonate sodique, je fus amené à exclure l'hypothèse d'une infection, et à croire que ce processus intestinal devait être considéré comme dû au poison cholérique, représenté par le corps même des vibrions injectés.

Dans ce cas, l'influence de la petite dose de toxine typhique devait donc être interprétée en ce sens que, en faisant tomber l'épithélium de la muqueuse intestinale, elle rendait immédiat le contact entre le corps des vibrions et la paroi, déjà malade, de l'intestin.

On arrivait par conséquent à observer un phénomène à peu près identique à celui que nous avons déjà étudié dans le péritoine, c'est-à-dire un processus inflammatoire local, de nature toxique. Dès lors, j'abandonnai définitivement l'emploi des cultures vivantes ou stérilisées et je commençai à préparer la toxine cholérique, dans le but de reproduire, chez les animaux, le processus intestinal spécifique qu'il n'était pas possible d'obtenir avec les mêmes microbes vivants.

J'ai déjà parlé du mode de préparation de ces toxines et de leur action sur l'intestin, lorsqu'elles y ont été introduites en même temps que le bicarbonate de sodium ou qu'elles sont accompagnées de l'injection intrapéritonéale de toxine typhique.

Dans les deux cas, ces substances exercent, sur les parois intestinales, à peu près la même fonction; la toxine typhique, comme nous le savons déjà, desquamme l'intestin en arrivant par la voie de la circulation générale; le bicarbonate de soude, au contraire, comme d'autres purgatifs salins¹, n'agit pas sur le

1. Voir : *Fusari et Marfori, Azione dei purganti salini sulla mucosa digerente. (Annali di Chimica e Farmacologia, 1894, n° 2, p. 97.)*

sang, mais, en contact immédiat avec la muqueuse, il suscite des phénomènes d'irritation et détermine le détachement des cellules épithéliales de la muqueuse et des villosités.

Ces lésions épithéliales de la muqueuse entérique, de quelque façon qu'elles soient provoquées, représentent donc la condition la plus opportune et peut-être indispensable pour obtenir, chez les cobayes adultes, au moyen de la toxine cholérique, le processus morbide intestinal que nous avons déjà longuement décrit et que, pour le moment, nous appellerons : *entérite cholérique expérimentale*.

Pendant, je me hâte d'ajouter que cette forme d'entérite expérimentale n'est pas spécifique pour la toxine ou les vibrions du choléra.

Nous pouvons, en effet, provoquer chez les cobayes un processus tout à fait analogue, même sans l'injection gastrique du poison cholérique.

Il suffit pour cela d'injecter, dans le péritoine, la dose habituelle de 2 c. c. de toxine typhique après avoir introduit dans l'estomac le seul bicarbonate sodique à la dose de 6 c. c.¹.

Dans ce cas, il se développe invariablement chez les cobayes une *entérite mortelle produite par le b. coli*.

Les animaux succombent en 6-8 heures, présentant tous les phénomènes de ceux qui meurent d'entérite cholérique, c'est-à-dire : hypothermie, grand météorisme, diarrhée, etc. Les cultures du péritoine, du sang et des différents organes restent presque toujours stériles ; on doit donc exclure l'idée d'une infection générale ; l'intestin, au contraire, et surtout le transsudat diarrhéique abondant de l'intestin grêle, contient des quantités énormes de *b. coli* virulent et à l'état de culture pure.

Le mécanisme biologique de cette forme d'entérite est donc probablement le suivant : la toxine typhique, non seulement produit des altérations anatomiques et fonctionnelles sur la muqueuse entérique, mais elle exalte encore la virulence du *B. coli* intestinal. Celui-ci, à son tour, reste extraordinairement favorisé dans son développement par l'alcalinisation marquée

1. Il est à remarquer que cette dose de bicarbonate, injectée dans l'estomac, seule, même pendant un grand nombre de jours de suite, est tolérée impunément par les cobayes, au point qu'on ne parvient pas même à observer une petite diminution de leur poids.

du milieu et par les désordres fonctionnels que le bicarbonate sodique ajoute à ceux qui ont déjà été produits par le poison typhique. Il se détermine par conséquent une véritable entérite produite par le *b. coli*, laquelle se distingue de l'entérite cholérique comme certaines entérites infectieuses de nos pays se distinguent du choléra asiatique, c'est-à-dire par la nature et par l'activité différentes des microbes et de leurs poisons respectifs.

Une alcalinisation adéquate des sucs entériques, une consécutive altération anatomique et fonctionnelle de la muqueuse et la présence de microbes virulents, capables de pouvoir se multiplier sans limites dans l'intestin, sont donc des éléments suffisants pour le développement d'une entérite mortelle. En conséquence, si chez les cobayes adultes nous ne pouvons obtenir, d'ordinaire, une entérite produite par des vibrions vivants, comme on l'obtient expérimentalement aussi chez l'homme et comme elle se produit chez les animaux avec le *B. coli*, cela dépend évidemment de quelque obstacle qui s'oppose à la libre multiplication des vibrions cholériques dans l'intestin de ces animaux.

Cet obstacle a déjà été signalé par M. Metchnikoff et, désormais, il est établi qu'il consiste dans la présence de microbes antagonistes aux vibrions cholériques.

En possession de ces connaissances, j'en ai largement profité pour étudier de plus près l'entérite cholérique expérimentale des cobayes, déterminée par la seule injection gastrique de toxine cholérique et de bicarbonate sodique.

Les toxines cholériques que j'ai préparées pour cette étude ont été de trois qualités; la 1^{re} fut préparée avec le vibron de Ghinda; la 2^e avec le vibron de Paris (1892), la 3^e avec le *ribrio Metchnikowi*.

Les vibrions employés pour la préparation des toxines étaient toujours rendus très virulents au moyen de passages consécutifs à travers le péritoine des cobayes.

La solution de peptoneensemencée était chaque fois en quantité de 2 litres; la période de développement était toujours égale, c'est-à-dire d'un mois environ; enfin la concentration de la culture et les traitements successifs étaient toujours identiques.

Malgré cela, la toxine du vibron de Ghinda fut plus active que celle du vibron de Paris, et celle-ci plus active que celle du *V. Metchnikowi*.

Avec la 1^{re} et la 2^e, je parvins en effet, à obtenir régulièrement l'entérite cholérique aiguë; la 3^e, au contraire, se montra d'une action très faible.

J'ai déjà décrit plus haut, en détail, les caractères les plus saillants et les résultats de l'entérite qu'on peut obtenir à volonté chez les cobayes à la suite de l'injection gastrique de toxine cholérique et de bicarbonate de sodium, répétée pendant quelques jours.

Je dois cependant ajouter que les seules expériences rapportées en entier au commencement de ce travail sont celles qui m'ont permis d'isoler les vibrions intestinaux: il manque donc quelques autres expériences sur l'entérite cholérique qui tue les animaux en quelques heures après une seule injection gastrique.

Je suis parvenu, en effet, à obtenir aussi cette forme très aiguë, foudroyante, d'entérite. L'occasion m'en fut fournie par une toxine cholérique préparée avec le *V. de Ghinda*, et que j'avais réduite à une forte concentration, après l'avoir laissée macérer dans l'étuve pendant environ un mois en présence d'hydrate potassique.

Après cela le protoplasma des vibrions avait fini par se désagréger pour la plus grande partie, et le liquide qui en était résulté se montra d'une toxicité exceptionnelle.

Il suffisait de l'injection gastrique de 3 c. c., dilués dans la même quantité de bicarbonate sodique, pour tuer les cobayes en 5-6 heures, avec les symptômes les plus marqués du choléra humain: hypothermie, excessive sensibilité abdominale, crampes, vomissement, diarrhée, etc.

Dans ces cas, cependant, je ne parvins jamais à isoler des vibrions. Évidemment la maladie intestinale était de trop courte durée pour favoriser la complète transformation des vibrions saprophytes en vibrions pathogènes.

Malgré cela, ce processus morbide très aigu, accompagné d'une symptomatologie et de données anatomiques extrêmement caractéristiques, réalise, après la méthode de *M. Metchnikoff*, le vrai type du choléra expérimental chez les animaux.

VIII

L'ACCOUSTOMANCE INTIGINALE DES COBAYES AUX POISONS CHOLÉRIQUES

La vaccination contre le choléra a donné lieu jusqu'à présent, à diverses interprétations dues à l'insurmontable difficulté de reproduire, chez les animaux, une maladie spécifique analogue à celle de l'homme.

Ainsi par exemple, tandis que d'une part, MM. *Gamaleïa*, *Haffkine*, *Brieger*, *Klemperer*, *Kitasato* et *Wassermann* soutiennent que les cobayes vaccinés par voie sous-cutanée ou intrapéritonéale deviennent réfractaires à la maladie intestinale produite par les vibrions injectés par la voie gastrique, MM. *Pfeiffer* et *Wassermann* ¹, *Sobernheim* ², arrivent d'autre part à des conclusions opposées.

Toute tentative d'immunisation qui s'efforcerait de mettre en jeu un pouvoir préventif du sang semble vouée à l'insuccès, si on se réfère à ce qui est connu pour l'homme, depuis que M. Botkine d'une part a montré que le sang de la plupart des individus qui meurent du choléra est doué de propriétés préventives, et que M. Metchnikoff a fait voir que la guérison du choléra peut se produire sans que le sang acquière ces propriétés.

On a donc cherché à obtenir l'immunité contre le choléra en faisant agir directement les substances vaccinales sur l'intestin, et nous rappelons ici les noms de MM. Klemperer ³, Sawtchenko et Zabolotny ⁴, Hasterlik ⁵, Metchnikoff. La conclusion a été que pour que la vaccination intestinale soit efficace contre l'entérite mortelle, il faut que l'intestin ait subi une entérite bénigne.

Or, chez les cobayes adultes, s'il n'est pas possible de produire le choléra avec des vibrions vivants, il se produit, cependant, avec les toxines cholériques, une entérite spécifique analogue au choléra humain. Il était donc intéressant d'essayer la vaccination de ces animaux contre l'action révulsive, diarrhéique et mortelle de la toxine.

1. *Zeitschr. für Hygiene* (1893, p. 46).

2. *Ibidem* (1893, p. 493).

3. *Berl. klin. Wochenschr.* (1892, n° 50).

4. *Wratch* (1893, p. 562).

5. *Wiener klin. Wochenschr.* (1893, p. 467).

Il y a déjà quelque temps que j'ai commencé des essais dans cette direction. Les premiers que j'ai faits, avec la toxine de Ghinda, n'ont pas été heureux. Cette toxine est trop énergique : diluée ou vieillie, elle n'attaque pas les parois intestinales et ne donne aucune immunité ; concentrée, elle détermine une cachexie dont l'animal ne se remet guère.

J'ai mieux réussi avec la toxine des vibrions de Paris : les animaux maigrissent sous son influence, mais peu, et se réparent vite quand on suspend l'ingestion du poison. Quelques jours après la fin du traitement, ils sont en état de supporter sans inconvénient une dose de toxine de Ghinda, mortelle pour les cobayes témoins.

Voici le résumé de mes expériences sur ce sujet.

Exp. I. — Cobaye n° 1, du poids de 303 grammes. On lui donne tous les jours, à partir du 9 juillet, 3 c. c. de la toxine du V. de Paris, diluée dans 3 c. c. de bicarbonate. Voici les résultats des pesées journalières :

| Dates | 10, | 11, | 12, | 13, | 15 juillet. |
|--------------|-----|-----|-----|-----|-------------|
| Poids en gr. | 285 | 320 | 320 | 345 | 330 |

Le 15, on suspend le traitement. Le 24, on donne à ce cobaye et à un cobaye témoin, tous les jours, 3 c. c. de la toxine de Ghinda, diluée dans 3 c. c. de bicarbonate. Voici les pesées :

| Dates | 24, | 25, | 26, | 27, | 28, | 29 juillet. |
|------------------|-----|-----|-----|-----|-----|------------------------|
| Cobaye immunisé. | 380 | 380 | 385 | 400 | 400 | On suspend le traitem. |
| Cobaye témoin. | 340 | 285 | 260 | — | — | — |

Le cobaye témoin meurt le 27, dans la nuit, d'une entérite cholérique grave.

Exp. II. — Cobayes n°s 1 et 2. Injection journalière, à partir du 12 août, de 3 c. c. de la toxine de Paris diluée dans 3 c. c. de bicarbonate. Voici les pesées :

| Dates | 12, | 13, | 14, | 15, | 18 août. |
|-------------|-----|-----|-----|-----|----------|
| Cobaye n° 1 | 430 | 415 | 395 | 400 | 390 |
| Cobaye n° 2 | 385 | 370 | 360 | 350 | 345 |

Les deux cobayes, laissés en repos pendant 12 jours, reçoivent ensuite, en même temps que deux cobayes témoins, l'injection de 3 c. c. de la toxine de Ghinda et de 3 c. c. de bicarbonate. Les cobayes témoins meurent d'entérite cholérique, avec un fort amaigrissement, après la 3^e injection. Les cobayes traités en supportent cinq, en maigrissant d'abord un peu et se rétablissant ensuite.

Exp. III. — Cobayes 1 et 2 traités comme les précédents à partir du 16 août.

| Dates | 16, | 17, | 18, | 19, | 20, | 21 août. |
|--------------|-----|-----|-----|-----|-----|----------|
| Cobaye n° 1. | 370 | 360 | 355 | 340 | 330 | 320 |
| Cobaye n° 2. | 395 | 380 | 365 | 340 | 325 | 320 |

Ce traitement de 6 jours a amaigri les animaux, dont l'un, le cobaye n° 2, meurt bientôt de cachexie; l'autre se rétablit et se répare. Le 16 septembre, on le soumet à la toxine de Ghinda, en même temps qu'un cobaye témoin, qui succombe à la 3^e ingestion, tandis que l'autre en supporte 5 sans faiblir.

Je ne rapporte que ces expériences, qui donnent une idée assez nette de ce qui se passe. On voit qu'il ne s'agit guère que d'un phénomène d'accoutumance locale, analogue à celui que j'ai déjà constaté chez les cobayes, accoutumés à l'action intestinale de la toxine typhique.

Mais le traitement préventif avec la toxine du V. de Paris n'en doit pas moins être fait avec beaucoup de précautions. Il faut en mesurer la durée et l'intensité d'après la tolérance manifestée par les animaux, s'arrêter lorsqu'ils maigrissent trop, et ne commencer les épreuves avec le vibron de Ghinda que lorsque, après un repos, qui doit être au moins de 10 ou 15 jours, ils ont repris ou même dépassé leur poids primitif.

J'ai dit plus haut qu'avec la toxine du V. *Metchnikovi*, je ne suis jamais parvenu à obtenir chez les cobayes une entérite cholérique analogue à celle que donnent les autres toxines vibrionniennes. L'animal ne subit aucun trouble apparent, sauf une légère diminution de poids, et, chose singulière, il peut résister cependant à l'ingestion de la toxine de Ghinda. C'est ce que montre l'expérience suivante :

EXP. IV. — 2 cobayes reçoivent tous les jours l'ingestion gastrique de 4 c. c. de toxine du V. *Metchnikovi*, dilués dans 4 c. c. sol. de bicarbonate.

| Dates | 3, | 4, | 5, | 6, | 7, | 8, | 9, | 10, | 11, | 12, | 13 juin. |
|-------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----------|
| Cobaye n° 1 | 325 | 305 | 315 | 310 | 310 | 310 | 315 | 320 | 335 | 340 | 345 |
| Cobaye n° 2 | 315 | 300 | 300 | 305 | 305 | 310 | 320 | 335 | 335 | 335 | 340 |

Le traitement reste suspendu 11 jours. Le 24 juin, on soumet les 2 cobayes en même temps que 2 témoins, à l'ingestion gastrique journalière de 3 c. c. de la toxine de Ghinda. Voici les pesées :

| — | Cobaye n° 1. | Cobaye n° 2. | Cobaye témoin. | Cobaye témoin. |
|----|--------------|--------------|----------------|----------------|
| 24 | 425 | 390 | 415 | 440 |
| 25 | 410 | 375 | 380 | 410 |
| 26 | 410 | 360 | 355 | 375 |
| 27 | 410 | 360 | Mort. | Mort. |
| 28 | 415 | 360 | | |

Ce qui précède montre bien qu'on peut vacciner des animaux contre l'entérite cholérique. Mais le traitement préventif est long et délicat. J'ai cherché si on ne pouvait pas arriver plus vite et j'y ai réussi à l'aide de la toxine du V. de Ghinda. Elle détermine, comme nous savons, une entérite toxique rapidement mortelle, quand elle est introduite dans l'estomac à la dose de 3 c. c., dilués dans un volume égal de solution de bicarbonate. Mais si on injecte ces 3 c. c. sans bicarbonate, ou 2 c. c. avec bicarbonate, les cobayes maigrissent rapidement et progressivement pendant plusieurs jours; mais, au bout de 20 à 30 jours, ils reprennent leur poids initial, et peuvent alors résister à l'ingestion gastrique de la dose mortelle, ainsi qu'en témoigne l'expérience suivante :

Exp. V. — Cobayes 1 et 2. Les 16 et 19 août, injection gastrique de 3 c. c. de toxine de Ghinda, dilués dans 3 c. c. d'eau. Les cobayes sont malades, présentent du météorisme et de la sensibilité abdominale, mais ils se rétablissent au bout de 24 heures, bien qu'ils s'amaigrissent. Le 6 septembre, ils ont regagné leur poids primitif. On leur fait ingérer alors, de même qu'à deux cobayes témoins, 3 c. c. de toxine de Ghinda dilués dans 3 c. c. de bicarbonate. Les témoins meurent le jour même. Les autres sont un peu malades dans les heures qui ont suivi l'ingestion, mais sont rétablis le soir.

Exp. VI. — Un cobaye reçoit le 17 août 2 c. c. de la toxine de Ghinda, dilués dans 3 c. c. de bicarbonate. Malaise, météorisme, sensibilité abdominale. Le poids varie peu.

| | | | | | | | |
|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----------|
| Dates | 17, | 18, | 19, | 20, | 21, | 22, | 23 août. |
| Poids. | 325 | 315 | 320 | 317 | 330 | 335 | 340 |

Ce cobaye reçoit le 23 août, en même temps qu'un témoin, 3 c. c. 5 de la toxine de Ghinda, dilués dans 4 c. c. de bicarbonate. Le cobaye témoin meurt en 10 heures d'une entérite cholérique; l'autre cobaye, après avoir présenté un peu de malaise, se rétablit le jour même, perd un peu de son poids les jours suivants, mais le 30 août, il était tout à fait réparé et rétabli.

Ces expériences ne laissent aucun doute sur la possibilité de préserver les animaux contre une dose mortelle de toxine produisant une entérite cholérique dont les analogies avec le choléra humain ne peuvent échapper à personne.

IX

RÉSUMÉ

En revenant aux notions développées dans le courant du présent travail, nous voyons d'abord que, à côté des vibrions

hydriques, il faut placer d'autres vibrions des intestins des animaux. Tous ces vibrions sont des vibrions cholériques, et ceux des eaux ne sont ni des survivants des anciennes épidémies, ni des saprophytes vulgaires, ils proviennent sans doute de l'intestin des animaux et peut-être de l'homme lui-même.

La méthode proposée par MM. Pfeiffer et Issaëff pour distinguer des pseudo-vibrions cholériques les vibrions cholériques authentiques, conduit à des conclusions paradoxales et n'est pas d'accord avec les faits. Tout au plus peut-on conclure, des essais auxquels elle a donné lieu, que dans l'espèce vibron cholérique, il y a des variétés pouvant fournir des substances toxiques et vaccinales d'activités différentes.

Relativement à l'action de ces vibrions dans l'organisme, nous avons d'abord refusé le caractère d'une infection générale à l'affection péritonéale ordinaire des cobayes : c'est une péritonite sans caractère spécifique.

L'interprétation est la même pour le processus morbide qui se développe dans le tube intestinal. Ici encore les vibrions ne détermineraient ni une infection, ni une intoxication générale ; ils détruiraient seulement l'épithélium intestinal, rendant *transsudantes* des parois *absorbantes*¹.

La cause de la mort par le choléra intestinal ne doit donc pas être recherchée dans un empoisonnement du sang. Les toxines cholériques, même celles des vibrions les plus actifs, ne sont pas absorbées dans l'intestin quand l'épithélium est intact, et il n'y a plus d'absorption quand l'épithélium est tombé.

Comme l'a montré M. Metchnikoff, on ne peut obtenir l'immunité contre l'entérite cholérique ni en faisant acquérir au sérum des propriétés préventives, ni en administrant par l'estomac des vibrions vivants. Il faut d'abord déterminer une entérite bénigne qui, une fois guérie, peut protéger contre une entérite mortelle.

Nous avons vu que cette accoutumance intestinale peut être réalisée au moyen des toxines. Comme le choléra humain n'est au fond qu'une entérite toxique, on peut prévoir la possibilité d'une méthode prophylactique basée sur l'accoutumance intestinale aux poisons cholériques.

1. La priorité de cette idée me semble revenir à M. Pacini, qui l'a émise en 1879. Voir : *Del processo morboso del cholera asiatico*, Firenze, 1879, p. 20.

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE III

1, vibrion de Paris. — 2, vibrion de Cassino. — 3, vibrion de Ghinda. — 4, vibrion de Massouah. — 5, vibrion de Hambourg. — 6, vibrion A. — 7, vibrion de Lisbonne. — 8, vibrion B. — 9, vibrion C. — 10, vibrion D. — 11, vibrion E. — 12, vibrion F. — 13, vibrion G. — 14, vibrion H. — 15, vibrion I. — 16, vibrion K. — 17, vibrion L. — 18, vibrion M.

PLANCHE IV

1. Vibrion de Hambourg, culture de 24 heures sur gélose.
2. Vibrion de Cassino, — —
3. Vibrion de Ghinda, — —
4. Vibrion de Massouah, — —
5. Vibrion de Lisbonne, — —
6. Préparation provenant du gros intestin d'un cobaye mort d'entérite cholérique toxique.
7. Vibrion A, culture de 24 heures sur gélose.
8. Vibrion A, exsudat péritonéal d'un cobaye.
9. Vibrion B, culture de 24 heures sur gélose.
10. Vibrion B, exsudat péritonéal d'un cobaye.
11. Vibrion C, — —
12. Vibrion L, non liquéfiant, culture de 24 heures sur gélose.



1



2



3



4



5



6



7



8



9



10



11



12



13



14



15



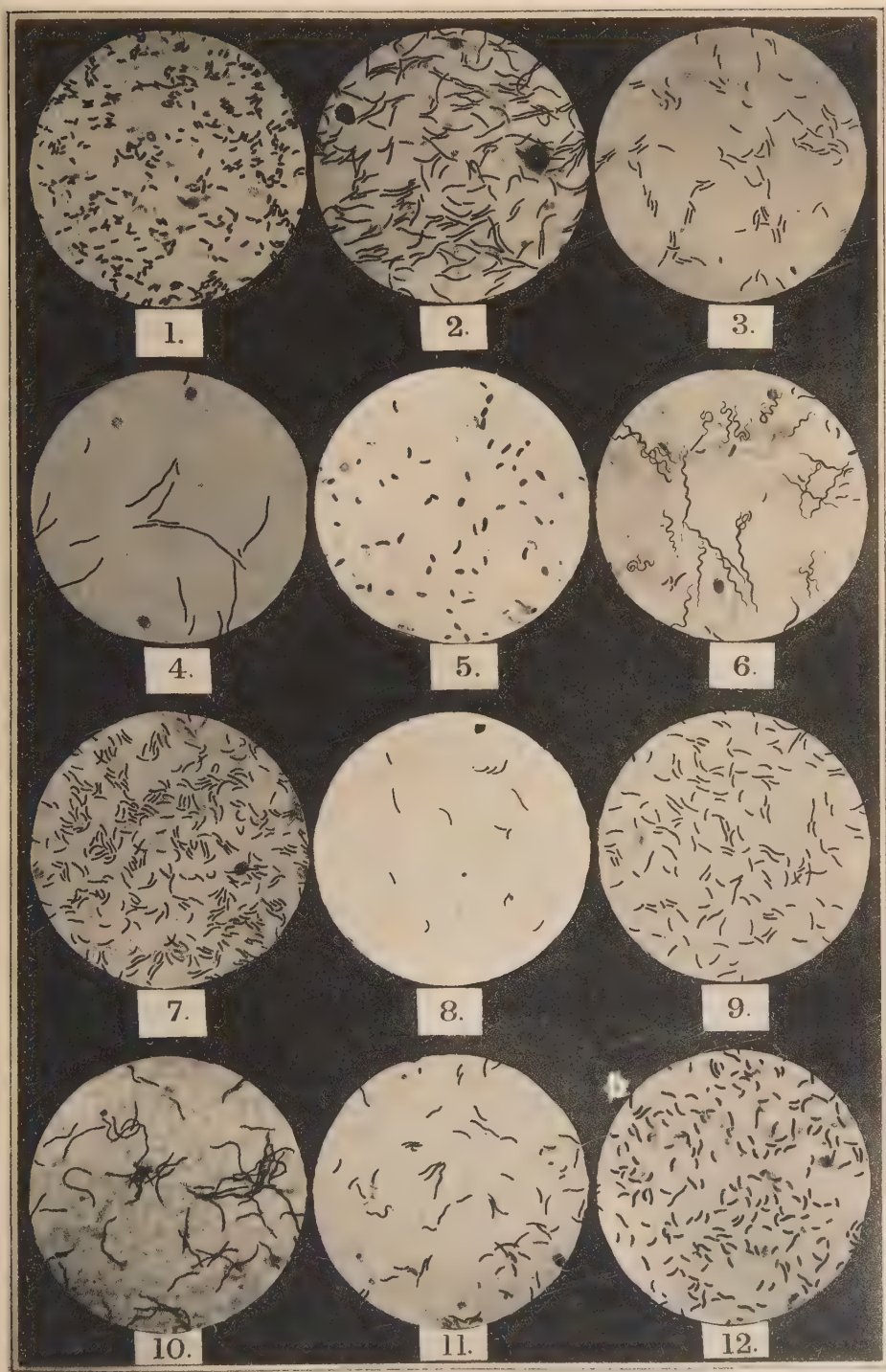
16



17



18



CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU VIBRION SEPTIQUE

PAR A. BESSON

Médecin aide major adjoint au laboratoire de bactériologie du Val-de-Grâce.

PREMIER MÉMOIRE

ÉTIOLOGIE

Le vibrion septique est le germe pathogène anaérobie le plus anciennement connu et étudié. En 1877, Pasteur fixait la morphologie et la biologie de ce microorganisme, en même temps qu'il décrivait, sous le nom de septicémie expérimentale aiguë, la maladie qui succède à son introduction dans le tissu cellulaire sous-cutané des animaux de laboratoire. Plus tard, MM. Chauveau et Arloing découvraient le vibrion de Pasteur dans la gangrène gazeuse foudroyante des hôpitaux de Lyon, l'érysipèle bronzé de Velpeau. En 1887, enfin, MM. Roux et Chamberland réussissaient à vacciner des animaux contre le vibrion en leur injectant des cultures stérilisées par la chaleur; dans le même mémoire, ces savants montraient que les cultures stérilisées peuvent encore, à haute dose, provoquer la mort des animaux réceptifs : ils avaient découvert le poison septique.

Après ces travaux, il peut sembler téméraire de vouloir ajouter quelque chose à l'histoire du vibrion septique. Il nous a cependant paru que certains points de l'étiologie de la septicémie gangréneuse étaient restés obscurs. Notre attention a été attirée par l'ancienne fréquence de cette maladie opposée à sa disparition presque complète à l'heure actuelle, malgré l'ubiquité du vibrion et la résistance de ses spores à nos agents antiseptiques. Les travaux de MM. Vaillard, Vincent et Rouget sur l'étiologie du tétanos, puis ceux de M. Metchnikoff sur l'étiologie du choléra ont donné une telle importance aux associations microbiennes que l'on devait se demander si les faits auxquels nous

venons de faire allusion n'étaient pas justiciables d'une explication tirée de cette féconde conception. Utilisant la voie tracée par M. Vaillard et ses élèves, c'est en appliquant les méthodes de ces expérimentateurs que nous avons entrepris l'étude de la septicémie gangréneuse.

Point n'est besoin, avant que d'aborder notre sujet, de rappeler les caractères morphologiques et biologiques du vibrion septique; il n'y a rien à ajouter aux descriptions de Pasteur. Disons seulement qu'un grand nombre d'espèces animales sont réceptives pour le vibrion septique; parmi les animaux de laboratoire, la souris, le cobaye, le lapin sont des plus sensibles. Davaine avait vu depuis longtemps qu'un millionième de goutte de sérosité septique suffit pour tuer un cobaye. Le chat présente aussi une grande réceptivité; le rat blanc vient ensuite, mais le rat d'égout est à peu près réfractaire: il ne meurt que sous l'influence d'une très forte dose d'un virus très actif, après avoir présenté une grosse lésion locale purulente. Dans nos recherches, nous avons utilisé de préférence le cobaye et le lapin. Les passages successifs par le cobaye accroissent rapidement la virulence du microbe: à des dilutions très élevées, une trace de sérosité tue alors le cobaye et le lapin en moins de 8 heures. Avec ces virus exaltés, la lésion locale est très peu accentuée: à peine note-t-on un léger œdème limité au point d'inoculation. La sérosité de l'œdème ne renferme point de leucocytes, elle est très riche en vibrions; jamais dans l'organisme vivant ces vibrions ne forment de spores; celles-ci, au contraire, apparaissent quelques heures après la mort, et surtout quand on porte un peu de sérosité à l'étuve à 35° à l'abri du contact de l'air.

Les spores du vibrion septique sont douées d'une grande résistance vis-à-vis des agents de destruction. MM. Chauveau et Arloing ont montré que les antiseptiques usuels étaient sans action sur ces germes; seul l'acide sulfureux leur a semblé posséder quelques propriétés destructives. Les spores septiques, à l'état humide, supportent, sans perdre de leur vitalité, la température de 80° pendant plusieurs heures, et résistent plus d'une demi-heure à 90°. D'après San Felice, elles ne sont pas atteintes par une dessiccation prolongée pendant plusieurs mois ni par une exposition de cinquante heures à la lumière solaire.

I

LE POISON SEPTIQUE

Les poisons bactériens ont pris une telle place dans la pathogénie des maladies infectieuses que l'on ne peut omettre, dans un travail consacré à un microbe pathogène, l'étude de la toxine que ce microbe prépare : aussi, dès le début de ce mémoire, devons-nous nous préoccuper de la nature et des propriétés du poison septique.

Dès 1887, MM. Roux et Chamberland ont étudié le poison que le vibrion septique produit dans les cultures et dans l'organisme vivant. Après l'inoculation, le vibrion se multiplie et envahit rapidement la totalité de l'organisme envahi : il ne faut donc pas s'attendre à ce que sa toxine ait la même activité que celle des microbes qui, comme les bacilles du tétanos et de la diphtérie, se cultivent uniquement au point d'inoculation. Alors que les toxines de ces derniers microbes amènent la mort des petits animaux de laboratoire à des doses presque infinitésimales, le filtrat des cultures du vibrion septique ne produit une maladie mortelle, chez les mêmes animaux, qu'autant qu'on en injecte plusieurs centimètres cubes.

A. *Cultures filtrées.* — Dans nos recherches, nous avons utilisé des cultures filtrées à la bougie Chamberland, et aussi, après semblable filtration, de la sérosité recueillie sur des animaux venant de succomber à la septicémie expérimentale aiguë. Pour les cultures, il faut choisir un milieu permettant au microbe de fabriquer la plus grande quantité possible de matière toxique. Les cultures en bouillon ordinaire conviennent mal : elles sont très peu actives, et, après filtration, tuent difficilement le cobaye. Mieux vaut s'adresser à du bouillon de bœuf peptonisé à 8 ou 10 0/0 (peptone Chapoteaut) et fortement alcalinisé. Nous avons obtenu de meilleurs résultats encore en utilisant un mode de culture que nous a indiqué M. Roux. Dans un flacon de 1,200 à 1,500 c. c. de capacité, on met 500 grammes de viande de bœuf hachée et quelques centimètres cubes d'une solution de soude à 1 0/0 ; le flacon, bouché à l'ouate, est porté à l'autoclave à 115° C. pendant vingt minutes. Après refroidissement, on ensemence avec un peu de sérosité prise sur un

cobaye mort de septicémie. Au bouchon de ouate, on substitue un bouchon de caoutchouc stérilisé portant deux tubes dont l'un plonge dans le contenu du flacon, se recourbe à angle aigu et se termine par une extrémité effilée : il servira à décanter le liquide, après culture. L'autre tube s'arrête à la partie supérieure du flacon ; à l'extérieur il est coudé à angle droit, renferme une bourre de ouate et porte un étranglement près de son extrémité. C'est à ce dernier tube que l'on adapte la machine à vide. Le vide fait dans le flacon, le tube est fermé d'un trait de chalumeau, au niveau de l'étranglement, et le flacon est porté à l'étuve à 37°. Au bout d'une vingtaine d'heures, de nombreuses bulles de gaz viennent crever à la surface de la bouillie pâteuse que contient le flacon, la viande prend une teinte rose vif caractéristique, et il tend à se former deux couches : dans un liquide trouble et rougeâtre, baigne une masse semi-solide, crevassée, irrégulière. Vers la fin du deuxième jour, il est utile de casser avec une pince l'extrémité du tube que l'on a fermé au chalumeau : les gaz dégagés par la culture s'échappent immédiatement en sifflant, et une odeur infecte se répand dans la salle : ces gaz, formés en grande abondance et comprimés dans le flacon, gênent la culture et, faute de leur donner issue, on n'obtiendrait jamais qu'un produit peu toxique. Après leur évacuation, la culture se poursuit à l'abri de l'air, le flacon étant constamment rempli, à la pression atmosphérique, par l'acide carbonique et l'hydrogène dégagés par le développement de la bactérie.

L'expérience a montré que le maximum de toxicité des cultures se rencontre vers le 6^e jour, puis leur activité baisse rapidement : c'est donc à ce moment que le flacon sera retiré de l'étuve. La partie liquide est décantée, la partie solide est passée à la presse à viande et la sérosité obtenue est mêlée au produit de la décantation ; le tout est filtré sur une bougie Chamberland.

La toxine ainsi obtenue est beaucoup plus active que celle que préparaient MM. Roux et Chamberland. A la dose de 3 à 5 c. c. injectés dans le péritoine, des cobayes de 450 à 600 grammes présentent une affection passagère, dont tous les symptômes rappellent les phénomènes terminaux de la septicémie, mais qui guérit rapidement. Une dose inférieure à 2 c. c. ne donne lieu à aucune manifestation morbide. C'est ce que démontrent

les quelques expériences suivantes, choisies parmi les très nombreuses que nous possédons.

EXP. — Un cobaye mâle de 420 grammes reçoit, le 30 janvier 1894, un centimètre cube de filtrat, dans le péritoine. Rien à la suite.

EXP. — Cobaye mâle. Poids 475 grammes. Reçoit, le 3 juin 1893, dans le péritoine, 3 c. c. de filtrat. Rapidement, la température rectale tombe de 39°5 à 37°5, puis à 33°5. L'animal se met en boule, son poil se hérisse. Le lendemain la température est redevenue normale, on constate un peu d'œdème au point de pénétration de l'aiguille. Tout symptôme a disparu le 5 juin au matin.

EXP. — Cobaye mâle. Poids 450 grammes. Reçoit le 31 janvier 1894, à 4 heures du soir, dans le péritoine, 4 c. c. de filtrat. Un quart d'heure après l'injection, la température est tombée de 39°3 à 36°5, et au bout de 2 heures, à 34°9. L'animal est immobile, son poil est hérissé, ses membres sont agités de fréquents soubresauts; il tient les yeux fermés. Bientôt il tombe sur le flanc, présente un état comateux. Il semble mourant à 7 heures du soir. Le lendemain matin on retrouve l'animal sur ses pattes, le poil est encore hérissé, la température rectale est de 36°7. Cet état s'améliore progressivement, et le 3^e jour l'animal est en parfaite santé.

Des doses analogues, ou plus considérables, injectées dans le tissu cellulaire sous-cutané, ont beaucoup moins d'influence sur l'état général, et ne font guère varier la température : mais, localement, elles produisent soit un œdème très marqué, soit une eschare.

EXPÉRIENCE. — Cobaye. Poids 410 grammes. Le 3 juin 1893, reçoit sous la peau de l'abdomen 5 c. c. de filtrat; à la suite, aucun phénomène général; apparition d'un œdème dur au point d'inoculation. Le soir, cet œdème s'étend à une large portion de la paroi thoraco-abdominale; il persiste trente-six heures.

EXP. — Cobaye. Poids 460 grammes. Le 20 mai 1893, reçoit sous la peau de l'abdomen 4 c. c. de filtrat. Rapidement se produit un œdème volumineux; l'animal se met en boule, son poil se hérisse, sa température baisse de deux degrés. Le lendemain, l'état général est redevenu normal; l'œdème ne disparaît qu'au troisième jour.

EXP. — Cobaye. Poids 460 grammes. Le 20 mai 1893, reçoit sous la peau de l'abdomen 4 c. c. de filtrat. Pas de phénomènes généraux. Le soir apparition d'un œdème qui s'étend à toute la paroi abdominale et persiste jusqu'au lendemain soir.

EXP. — Cobaye. Poids 330 grammes. Le 3 juin 1893, reçoit sous la peau de l'abdomen 5 c. c. de filtrat. Aucun accident le jour même. Le lendemain, induration, rougeur de la région; le troisième jour se dessine une zone de mortification qui aboutit à l'élimination d'une large eschare. Guérison.

EXP. — Cobaye. Poids 420 grammes. Le 30 mai 1893, reçoit sous la peau

de l'abdomen, 5 c. c. de filtrat. Dès le lendemain formation d'une eschare de l'étendue d'une pièce de deux francs. Élimination. Guérison.

Dans aucun des cas où nous avons noté de l'œdème (33 expériences), l'examen microscopique d'une gouttelette de la sérosité, prélevée purement, n'a décelé la présence d'un vibrion. Ce liquide d'œdème, à l'œil nu, paraissait transparent, un peu rosé, et, au microscope, l'on y rencontrait d'assez nombreux globules rouges; les leucocytes y étaient très rares: leur proportion, par rapport aux globules rouges, était à peu près la même que dans le sang. Lesensemencements sont toujours restés stériles.

Quand on injecte, à un cobaye ou à un lapin, de petites doses plusieurs fois répétées du produit de filtration d'une culture en viande, on observe une véritable intoxication chronique; nous aurons plus tard l'occasion de dire qu'il est à peu près impossible de vacciner les animaux par ce procédé.

Exp. — Cobaye. Poids 460 grammes. Reçoit, du 3 au 20 juin 1893, tous les trois jours, une dose de 2 à 4 c. c. Dès la troisième inoculation, il perd l'appétit, son poil se hérissé, il commence à maigrir. Le 20 juin, on est forcé de suspendre les inoculations; l'animal meurt quelques jours après en pleine cachexie.

Exp. — Cobaye. Poids 475 grammes. Du 3 juin au 12 juillet 1893, reçoit 38 c. c. de filtrat, en doses fractionnées, répétées tous les quatre jours. La santé reste bonne jusqu'au 12 juillet; à ce moment, l'animal devient triste, maigrit, son poil se hérissé; les inoculations sont suspendues jusqu'au 25 juillet: à cette époque, l'animal est redevenu vif, son poids est de 470 grammes, son poil est luisant; on recommence les inoculations, mais dès la deuxième (3 centimètres cubes) les symptômes morbides réapparaissent, et l'animal meurt de cachexie le 20 août.

L'injection intrapéritonéale de doses comprises entre 5 et 40 c. c. tue rapidement des cobayes de 300 à 400 grammes.

Exp. — Cobaye. Poids 325 grammes. Reçoit dans le péritoine 6 c. c. de filtrat. En une heure, la température tombe de 39° à 34°. Le cobaye se met en boule, son poil se hérissé; surviennent des mouvements convulsifs, du coma; le lendemain matin l'animal est mort dans sa cage (6 mai 1893).

Exp. — Cobaye. Poids 305 grammes. Le 15 juin, à 7 heures du soir, reçoit dans le péritoine 7 c. c. de filtrat. Le lendemain matin l'animal est dans le coma; des convulsions fréquentes agitent ses membres, la température rectale est de 33°,4; la mort survient au milieu de la journée.

L'addition de solution iodée semble modifier très peu les propriétés de la toxine septique. La chaleur a plus d'action: le

chauffage des cultures à 80° et 100° diminue notablement l'activité du poison, qui devient ainsi susceptible d'être toléré à des doses beaucoup plus fortes. Le vieillissement de la toxine à la température de 35°, à la lumière diffuse, en altère rapidement les propriétés. Il n'en est pas de même du vieillissement en vase clos, à l'abri de l'air et de la lumière, à la température du laboratoire : dans ces conditions le poison conserve toute son activité.

EXP. — Un filtrat, tuant un cobaye de 325 grammes à la dose de 6 c. c. injectés dans le péritoine, est conservé pendant un an, en tubes scellés, dans une armoire obscure. Le 10 juillet 1894, un cobaye de 295 grammes reçoit dans le péritoine 6 c. c. de ce filtrat âgé d'un an : bientôt l'animal se met en boule, sa température baisse, il tombe dans le coma et meurt dix heures après l'inoculation.

Dans tous les cas où la mort succède à une injection intrapéritonéale de toxine, on trouve, à l'autopsie, l'intestin congestionné, le péritoine rouge hortensia, et il existe un peu de sérosité stérile dans la cavité péritonéale.

B. *Sérosité filtrée*. — Le produit obtenu en filtrant de la sérosité d'œdème de cobayes et de lapins récemment morts de septicémie s'est montré beaucoup moins actif que la toxine fournie par les cultures en viande. Injectée à la dose de 2 à 10 c. c. dans le péritoine de cobayes de 280 à 350 grammes, cette sérosité filtrée a toujours été inoffensive. Chez le cobaye de 300 grammes environ, on obtient une maladie plus ou moins grave, mais aboutissant toujours à la guérison avec une dose de 15 à 20 c. c. La mort n'a été obtenue qu'après injection intrapéritonéale de 30 à 40 c. c.

Propriétés chimiotaxiques. — La toxine du vibrion septique possède des propriétés chimiotaxiques négatives. Suivant un procédé classique, des tubes capillaires sont remplis de toxine préparée en bouillon peptonisé; puis, avec un léger trait de chalumeau on les ferme à une extrémité : on obtient ainsi de petits tubes, longs de 2 à 3 centimètres, pleins de toxine et ouverts à un seul bout. Ces tubes sont introduits, au moyen de très petites incisions, sous la peau de lapins et de cobayes; au bout de 8, 10 et 20 heures on les enlève et examine leur contenu. Tandis que des tubes témoins, renfermant un peu du bouillon qui a servi à la culture, et introduits en même temps sous la

peau, contiennent à ce moment un liquide louche, très riche en leucocytes, le contenu des tubes de toxine est resté limpide et l'examen microscopique n'y décèle aucun leucocyte. Ce n'est que pour des durées d'inclusion de 24 à 30 heures que ces derniers tubes peuvent présenter des leucocytes, soit qu'au contact prolongé des tissus vivants les propriétés du poison aient subi des modifications, soit que la toxine ait diffusé et ait été remplacée par de la lymphe.

Le chauffage à 85° pendant deux à trois heures, qui, comme nous l'avons dit, altère le poison septique, modifie absolument ses propriétés chimiotaxiques : de négatives elles deviennent positives, et les tubes insérés sous la peau des lapins et des cobayes ne tardent pas à se remplir de leucocytes.

II

A L'ÉTAT DE PURETÉ, LES SPORES DU VIBRION SEPTIQUE NE SE DÉVELOPPENT PAS DANS LES TISSUS VIVANTS ET SAINS

Pour vérifier l'hypothèse que nous avons émise dès le début de ce travail, le premier point à démontrer est que la spore du vibrion septique, telle qu'elle existe dans la terre, n'est pas en état de se développer dans les tissus vivants et sains quand elle y pénètre à l'état de pureté. Il fallait pour cela nous procurer des spores pures.

Dans les cultures, les germes existent à côté de la toxine ; or nous avons vu que cette dernière s'altère quand on l'expose pendant plusieurs heures à la température de 80° ; au contraire les spores résistent dans ces conditions. Tel est le procédé auquel nous avons eu le plus souvent recours : une culture âgée de 15 à 20 jours est enfermée dans un petit tube de verre fermé aux deux bouts, le tube est maintenu au bain-marie pendant trois heures à 80° ; une petite portion de cette culture chauffée est alors prélevée etensemencée avec les précautions ordinaires : tous les jours cet ensemencement donne lieu à une culture virulente.

Une autre méthode, employée par MM. Vaillard et Vincent dans leurs recherches sur le tétanos, consiste à laver les spores pendant plusieurs jours sur un culot de filtre Chamberland ; la toxine est entraînée par l'eau et les spores restent sur le filtre ;

il faut que le lavage soit prolongé, car il est très difficile de débarrasser ainsi les germes de la totalité de leur toxine.

Enfin l'expérience nous a appris que, dans les cultures de vibron septique abandonnées plusieurs mois à l'étuve à 35°, la toxine finit par disparaître : on se trouve alors en présence de spores pures.

Dans toutes nos expériences, nous avons utilisé des cultures très abondantes et très virulentes préparées avec de la sérosité recueillie sur des cobayes récemment morts de septicémie, et mêlée à son volume de bouillon de bœuf peptonisé.

Les spores pures, obtenues par l'un des précédents procédés, ont pu être injectées en très grande quantité à des cobayes et à des lapins sans déterminer aucun accident chez ces animaux.

Trente-cinq cobayes et quatre lapins ont reçu, sans inconvénient, des millions de ces spores dans le tissu cellulaire sous-cutané. Dans beaucoup de ces expériences on a recherché, par des numérations en gélatine, quel était, approximativement, le nombre des spores contenues dans la quantité de culture inoculée. Dans tous les cas, les cultures chauffées ont été injectées sous la peau à des doses variant de 0,1 à 0,8 c. c. Quand on a utilisé pour l'inoculation des spores privées de toxine par le lavage, ces germes, recueillis purement sur le filtre, ont été délayés dans une quantité d'eau égale au volume primitif de la culture. Pour fixer les idées, nous reproduisons ici les résultats de quelques-unes de nos expériences.

EXPÉRIENCE III. — Cobaye. Poids 230 grammes. 20 mars 1893. Reçoit sous la peau de l'abdomen 0,1 c. c. de culture chauffée. Aucun accident consécutif.

EXP. V. — Cobaye. Poids 460 grammes. 4 avril 1893. Reçoit 0,3 c. c. de culture chauffée. Aucun accident consécutif.

EXP. IX. — Cobaye. Poids 360 grammes. 25 avril 1893. Reçoit 0,5 c. c. de culture chauffée. Aucun accident consécutif.

EXP. XI. — Cobaye. Poids 460 grammes. Le 25 avril 1893, reçoit 0,7 c. c. d'une culture chauffée. Aucun accident consécutif.

EXP. XV. — Cobaye. Poids 640 grammes. Le 8 juin 1893, reçoit 0,2 c. c. d'une culture chauffée. Aucun accident consécutif.

EXP. XVII. — Cobaye. Poids 510 grammes. Le 8 juin 1893, reçoit 0,4 c. c. de spores lavées (ramenées au volume de la culture). Aucun accident à la suite.

EXP. XXI. — Cobaye. Poids 550 grammes. Le 18 octobre 1893, reçoit 0,2 c. c. d'une culture chauffée, soit environ 2,207,900 spores. Aucun accident à la suite.

EXP. XXII. — Cobaye. Poids 780 grammes. Le 20 octobre 1893, reçoit 0,5 c. c. d'une culture chauffée, soit environ 5,000,000 de spores. Aucun accident consécutif.

EXP. XXIV. — Lapin. Reçoit, le 18 novembre 1893, 1,2 c. c. d'une culture chauffée, soit à peu près 14,760,000 spores. Aucun accident consécutif.

EXP. XXVIII. — Cobaye. Poids 530 grammes. Reçoit, le 31 octobre 1893, 0,6 c. c. d'une culture chauffée, soit approximativement 3,407,040 spores. Aucun accident à la suite.

EXP. XXIX. — Cobaye. Poids 500 grammes. Reçoit, le 31 octobre, 0,5 c. c. d'une culture chauffée, soit 2,839,000 spores. Rien à la suite.

EXP. XXI. — Cobaye. Poids 665 grammes. Reçoit, le 8 novembre 1893, 1 c. c. d'une culture chauffée, soit 5,678,000 spores. Aucun accident consécutif.

EXP. XXXIX. — Lapin. Reçoit, le 24 novembre 1893, 1 c. c. d'une culture chauffée, soit 12,357,600 spores. Aucun accident consécutif.

EXP. LVIII. — Cobaye. Poids 530 grammes. Reçoit, le 2 février 1894, 0,5 c. c. d'une culture chauffée, soit 1,450,000 spores. Rien dans la suite.

EXP. LXII. — Cobaye. Poids 630 grammes. Reçoit, le 10 août 1894, sous la peau de l'abdomen, 0,8 c. c. d'une culture vieille de trois mois et conservée à l'étuve à 35°. Aucun accident à la suite.

EXP. LXVIII. — Cobaye. Poids 365 grammes. Reçoit, le 29 août 1894, sous la peau de l'abdomen, 0,2 c. c. d'une culture conservée 10 semaines à l'étuve à 35°. Aucun accident consécutif.

EXP. LXX. — Lapin de 6 mois. Reçoit, le 4 septembre 1894, sous la peau de l'abdomen, 1 c. c. d'une culture conservée 10 semaines à l'étuve à 35°. Aucun accident consécutif.

Nous arrêtons là cette énumération d'expériences : il est surabondamment démontré que l'inoculation de spores pures en quantités énormes (jusqu'à 5,000,000 pour le cobaye et 14,000,000 pour le lapin) n'a entraîné aucune maladie chez ces animaux. C'est là un point définitivement acquis : dans les conditions où nous nous sommes placés, les spores pures ne germent point dans les tissus sains. Reste à établir le mécanisme de ce phénomène. Mais, avant tout, il importe de bien remarquer que, si, dans les expériences précédentes, l'injection sous-cutanée des spores n'a pas provoqué la septicémie, la cause n'en est point que l'activité pathogène de ces spores fut amoindrie : il suffit en effet d'ajouter un peu d'acide lactique à une trace de nos cultures chauffées pour provoquer, à coup sûr, une affection mortelle chez les cobayes et les lapins inoculés.

III

POURQUOI LES SPORES DU VIBRION SEPTIQUE NE GERMENT PAS QUAND ELLES SONT INJECTÉES PURES DANS UN TISSU SAIN. — ROLE DE LA PHAGOCYTOSE

Dans les expériences précédentes, quand on injecte, sous la peau de l'abdomen d'un cobaye, une dose de 0,1 c. c. à 0,8 c. c. d'une culture chauffée de vibrion septique, il se produit rapidement, au lieu d'inoculation, une légère tuméfaction du tissu conjonctif. Cette tuméfaction se limite bientôt et aboutit, vers la 30^e heure, à la formation d'une petite nodosité de consistance ferme. A l'incision, cette nodosité se montre constituée par une masse blanc jaunâtre entièrement formée de leucocytes polynucléaires. En faisant, à divers moments, à l'aide d'une pipette effilée, des ponctions dans ces foyers, on retire un peu d'un liquide épais. L'examen de ce liquide par la méthode générale de coloration des spores (coloration à la fuchsine de Ziehl, décoloration du fond par l'acide nitrique étendu, recoloration par le bleu de méthylène aqueux) permet de se rendre un compte exact du phénomène qui aboutit à la destruction des germes.

Vers la 24^e heure, les leucocytes sont très abondants au lieu d'inoculation; la plupart d'entre eux renferment des spores bien colorables par la fuchsine de Ziehl; un certain nombre de leucocytes contiennent 2 ou 3 spores, quelques-uns seulement en renferment 5 à 8. En dehors des leucocytes, on voit un très petit nombre de spores libres; il est probable que ces spores ont été englobées, mais que les manipulations ont détruit quelques phagocytes et mis en liberté les germes qu'ils contenaient. Ce que nous savons de la biologie du vibrion rend inadmissible que des spores aient pu rester libres 24 heures dans les tissus du cobaye sans germer. Jamais on ne rencontre de bacilles.

Vers la 30^e ou 36^e heure, le nombre des spores contenues dans les leucocytes diminue notablement; beaucoup d'entre elles se colorent mal, les autres ont complètement disparu, mais sont remplacées, à l'intérieur des noyaux, par des vacuoles ne prenant aucune coloration, et qui sont les derniers vestiges de la digestion des germes. Ces vacuoles se retrouvent après 3 et 4 jours: il est exceptionnel de rencontrer alors des spores colorables à l'intérieur des leucocytes; ce n'est que vers le 6^e

ou 8^e jour que les vacuoles elles-mêmes disparaissent; le leucocyte devient granuleux, son noyau se colore irrégulièrement. La nodosité persiste pendant 10 à 12 jours, puis elle se résorbe et disparaît complètement.

A l'inoculation des spores pures succède donc un afflux de cellules phagocytaires; les spores du vibrion septique, comme celles du tétanos, sont rapidement ingérées, puis détruites par les leucocytes.

Il est cependant possible de provoquer la mort des animaux d'expérience à l'aide des spores pures du vibrion septique. Le pouvoir protecteur des phagocytes n'est pas indéfini; on conçoit que, si l'on injecte une dose de spores telle que les leucocytes soient débordés, ne puissent suffire à l'englobement des germes, la septicémie doive se déclarer. Cette limite de la résistance cellulaire est d'autant plus facile à atteindre que les spores du vibrion germent rapidement dans les tissus; pour que la septicémie ne se manifeste pas, il importe que leur immobilisation par les phagocytes ait lieu dans les premières heures qui suivent l'inoculation; passé ce temps, les spores ont germé, les bacilles ont commencé à élaborer leur toxine négativement chimiotaxique, la route est fermée aux cellules amœboïdes; la septicémie est fatale.

On ne peut prévoir, *a priori*, quelle dose exacte de spores pourra être inoculée sans danger: il y a là une affaire de réceptivité individuelle variable d'espèce à espèce, d'animal à animal. Le lapin résiste à des doses fatalement mortelles pour le cobaye. Cependant, pour une même espèce, la faculté de résistance semble être, jusqu'à un certain point, fonction du poids de l'animal. Un cobaye de 600 grammes, par exemple, supporte 0,8 c. c. d'une culture chauffée, alors que 0,6 c. c. de la même culture tue sûrement un cobaye de 225 grammes.

L'état de santé de l'animal semble également jouer un rôle important dans l'aptitude à la résistance; plusieurs fois des cobayes atteints d'affections diverses furent inoculés avec des spores chauffées, et, presque toujours, des doses minimales de ces spores, inoffensives pour des cobayes sains de même poids, les tuèrent en peu d'heures. Il semble que, dans ce cas, l'activité phagocytaire ait été diminuée du fait de la maladie préexistante.

IV

LES SPORES GERMENT ET PROVOQUENT LA SEPTICÉMIE QUAND ELLES SONT
PROTÉGÉES CONTRE LES PHAGOCYTES

L'examen de la lésion consécutive à l'inoculation de spores pures dans le tissu cellulaire du cobaye et du lapin nous a permis de reconnaître que la germination de ces spores est empêchée par les phagocytes ; nous aurons fourni de ce fait une nouvelle preuve plus concluante encore si nous établissons que, protégées contre les cellules amœboïdes, les spores peuvent se développer et infecter l'organisme animal.

Les substances chimiotaxiques négatives, jouissant de la propriété d'empêcher l'émigration leucocytaire, soustraient à l'action des éléments cellulaires les germes inoculés en même temps qu'elles. Une des plus actives de ces substances est l'acide lactique : un cobaye qui supporte sans accidents deux ou trois millions de spores septiques pures succombe infailliblement à l'inoculation d'une centaine de ces mêmes germes si on a eu préalablement le soin de les délayer dans un peu d'eau contenant une goutte d'acide lactique.

Nous avons dit plus haut que la toxine septique jouit de propriétés chimiotaxiques négatives ; il suffit d'ajouter un à deux centimètres cubes de cette toxine à une faible quantité de spores pour amener, en quelques heures, la mort du cobaye inoculé.

Dans ces cas, l'exsudat leucocytaire est nul ; peu après l'inoculation apparaît un œdème crépitant ; le tissu conjonctif est infiltré par un liquide clair dépourvu d'éléments figurés amœboïdes ; la culture se généralise et l'animal ne tarde pas à succomber. Après l'inoculation de spores additionnées d'acide lactique, l'œdème est toujours très marqué, la peau est distendue, l'épiderme se desquame, le derme mis à nu prend une teinte livide et laisse suinter un liquide sérosanguinolent d'odeur putride ; la ressemblance est très grande avec la gangrène gazeuse de l'homme. A l'autopsie, les muscles sous-jacents sont dissociés, infiltrés de sérosité, les cartilages articulaires sont souvent décollés, l'os mis à nu.

Les procédés mécaniques de protection contre les phagocytes

utilisés par MM. Vaillard et Rouget dans leurs recherches sur l'étiologie du tétanos, peuvent être employés avec succès pour permettre aux spores pures du vibrion septique de se développer dans l'organisme. On obtient en particulier une expérience très démonstrative en s'adressant à la méthode utilisée par ces savants pour réfuter les objections que Roncali avait opposées à leurs travaux.

On taille purement, dans un morceau de gélose peptonisée stérilisée, un petit cube de 0^m,005 de côté; avec une aiguille chauffée on creuse ce cube d'une petite cavité qui reçoit une très fine gouttelette (moins de 100 spores) d'une culture de vibrion préalablement chauffée deux heures à 80°, puis, avec une goutte de gélose fondue, on obture le petit orifice.

Le cube ainsi préparé est placé, avec la plus grande pureté, sous la peau de l'aîne d'un cobaye, et l'on suture la petite plaie résultant de l'opération. Un cobaye témoin, de même poids, reçoit, le même jour, une dose de 0,4 à 0,5 c.c. (800,000 à 1,200,000 spores) de la même culture, et reste sain les jours suivants. Le cobaye qui a reçu le cube, au contraire, meurt sûrement le 3^e ou le 4^e jour après l'inoculation, avec tous les symptômes de la septicémie. Une dose minime de spores suffit dans ce cas pour infecter l'animal, la mort, il est vrai, n'arrivant qu'au bout de plusieurs jours; l'œdème n'apparaît jamais avant quarante-huit heures, et l'animal ne succombe que le 3^e jour, au plus tôt. L'examen du cube de gélose, pratiqué immédiatement après la mort, donne l'explication de ces faits. Au centre des parties œdématisées, on trouve le cube entouré par une membrane épaisse, blanchâtre, assez résistante, et uniquement constituée par des leucocytes polynucléaires; les arêtes du cube sont émoussées; ses couches les plus superficielles renferment de nombreux leucocytes, mais, dès qu'on atteint une profondeur de un millimètre à un millimètre et demi, les leucocytes deviennent rares: ils font absolument défaut au centre. Jamais on n'observe trace de phagocytose dans ces cellules. Au centre du cube, toutes les spores ont germé et sont remplacées par de nombreux vibrions. Ces vibrions ont traversé les parois du cube, où on les retrouve en abondance, et ont fini par atteindre le tissu cellulaire où ils ont pu se développer, l'émigration leucocytaire ayant été rapidement arrêtée par la diffusion de la

toxine produite par la culture à l'intérieur du cube. La longueur relative de l'incubation de la maladie est due à la durée de la culture, latente pour ainsi dire, dans le cube : les premiers symptômes n'apparaissent qu'au moment où les vibrions et leurs produits atteignent le tissu cellulaire.

Une expérience de contrôle vérifie les faits énoncés : deux cubes avec spores sont préparés d'une façon identique et inoculés à deux cobayes semblables ; l'inoculation terminée, un cobaye est gardé comme témoin ; chez l'autre, on écrase le cube en le serrant entre les doigts, sous la peau de l'animal. Le cobaye témoin meurt de septicémie, le cobaye au cube écrasé reste indemne.

En mêlant des spores pures avec une certaine quantité de sable fin, on protège, dans une certaine limite, les spores contre les phagocytes ; on peut ainsi obtenir la mort avec de petites quantités de spores. Un centimètre cube d'une culture chauffée, renfermant approximativement 2,900,000 spores, est mélangé à 8 grammes de sable fin stérilisé ; il suffit d'une quantité du mélange ayant le volume d'une tête d'épingle pour tuer un fort cobaye ; or cette quantité correspond à un très petit nombre de germes. Que, dans cette expérience, il s'agisse bien d'une protection toute mécanique des spores par les grains de sable, c'est ce que prouve la contre-épreuve suivante. Un cobaye reçoit, en un point du tissu cellulaire sous-cutané de la paroi abdominale, gros comme une tête d'épingle du mélange de sable et de spores ; il meurt le lendemain. En même temps que celui-là, un cobaye de même poids a reçu une quantité double du même mélange, mais cette quantité a été répartie en six points différents du tissu cellulaire sous-cutané de l'animal : ce cobaye ne prend pas la septicémie. L'explication de ce fait est simple ; les leucocytes qui n'ont pu réussir à englober, en un point de l'organisme, une certaine quantité de spores mêlées de grains de sable, ont la tâche rendue plus aisée par le seul fait que la masse à englober est répartie en différents points ; son action ainsi divisée, la fonction phagocytaire s'exerce au moyen d'un nombre beaucoup plus grand de cellules amœboïdes, chaque foyer d'inoculation provoquant autour de lui un exsudat leucocytaire qui a facilement raison d'une quantité minime du corps étranger à détruire.

Par toutes ces expériences, nos conclusions du précédent chapitre se trouvent confirmées : les leucocytes polynucléaires englobent les spores inoculées à l'état pur et préservent l'organisme ; entrave-t-on la fonction phagocytaire, les spores germent et la septicémie éclate.

V

CONDITIONS DE L'INFECTION NATURELLE

A. *Les microbes favorisants.*

Une parcelle de terre de jardin, inoculée à un cobaye, lui donne, à peu près à coup sûr, une septicémie mortelle ; nous avons en notre possession une terre dont l'inoculation d'une quantité égale au volume d'une tête d'épingle ordinaire tue fatalement le cobaye. Or, un pareil volume de la même terre chauffée 2 heures à 80° est sans action pathogène sur le même animal ; nous avons dit précédemment que du sable additionné d'une grande quantité de spores était inoffensif à cette dose.

Il y a donc dans la terre de jardin un agent qui favorise le développement des spores ; or, d'après ce que nous avons établi, un tel facteur ne peut intervenir qu'à la condition d'agir sur la fonction phagocytaire, et, après les recherches de MM. Vaillard, Vincent et Rouget sur l'étiologie du tétanos, on doit penser, *a priori*, à attribuer cette action favorisante à des associations microbiennes. Pour vérifier cette hypothèse, nous nous sommes d'abord adressé aux bactéries qui avaient, dans les travaux des auteurs précédents, favorisé la germination des spores tétaniques en tissus sains, et nous avons inoculé, à des cobayes, comparativement des spores septiques pures et des mélanges de spores et des microbes favorisants du tétanos. Aucun de nos animaux n'a succombé ; une petite nodosité se produisait après l'inoculation, la phagocytose s'y montrait très active, et les germes inoculés disparaissaient bientôt. Les microbes favorisants du tétanos écartés, il restait à déterminer si un rôle analogue vis-à-vis du vibrion septique était dévolu à d'autres bactéries. Pour cela, nous avons entrepris systématiquement l'étude des microbes qui se trouvent dans la terre à côté des spores septiques. Un cobaye reçoit une petite parcelle de terre et meurt de septicémie au bout de 22 heures ; à l'autopsie, on trouve, au point d'inocu-

lation, les grains de terre environnés d'une très petite quantité d'un pus épais. Une trace de ce pus estensemencée dans une fiole de Vivien contenant une très faible couche de bouillon : la fiole est portée à l'étuve : le développement, dans ces conditions, se fait au contact de l'air ; le vibron ne peut se cultiver ; seules les bactéries aérobies se multiplient, le liquide se trouble, prend une teinte verdâtre et dégage une odeur putride. Le 3^e jour on réensemence une petite gouttelette de la culture dans une nouvelle fiole de Vivien ; on fait ainsi 4 à 5 passages consécutifs. Le dernier passage terminé, on injecte un demi-centimètre cube de la culture sous la peau de l'abdomen d'un cobaye ; l'animal ne prend pas la septicémie, mais il se forme, au lieu d'inoculation, un abcès volumineux. Une gouttelette du pus de cet abcès estensemencée en bouillon, une autre sert à faire des isoléments en boîte de Petri. Au bout de 4 à 5 jours, de nombreuses colonies apparaissent sur la gélatine des boîtes ; ces colonies sont de quatre sortes : certaines, de couleur blanche, liquéfient la gélatine et sont constituées par un gros bacille à bouts arrondis ; d'autres sont formées par un fin bacille, assez analogue au bacille fluorescent liquéfiant, et communiquant aux cultures une odeur putride et une coloration verdâtre ; d'autres encore sont formées par un coccus blanc ; les dernières enfin par un coccus rouge produisant de la triméthylamine.

En dehors des spores septiques, la terre en expérience renfermait donc quatre bactéries qui ont résisté au passage par l'organisme animal ; c'est parmi elles que nous devons rechercher l'existence de microbes favorisants.

Injectons à un cobaye une trace de spores septiques pures et quelques dixièmes de centimètre cube de la culture totale en bouillon de nos quatre bactéries de la terre, l'animal prend la septicémie et meurt au bout de 24 heures. Un cobaye témoin résiste au contraire à l'inoculation d'une dose dix fois plus considérable de spores pures. De même, une trace de terre chauffée 2 heures à 80°, donne la septicémie au cobaye à la condition qu'on l'inocule avec un peu de la même culture en bouillon. Il est inutile de dire que cette culture des microbes favorisants, inoculée à plusieurs cobayes, ne leur a jamais donné la septicémie.

La terre de jardin renfermant des bactéries capables de favoriser le développement des spores septiques, nous avons

recherché si ce rôle favorisant est l'apanage de quelques-unes seulement, ou de la totalité des espèces que nous avons isolées. Le coccus rouge et le coccus blanc se sont montrés très actifs; il suffit d'injecter, avec un petit nombre de spores, quelques dixièmes de centimètre cube de leur culture pure en bouillon, pour communiquer au cobaye une septicémie rapide; il en a été de même du bacille à culture verdâtre; cependant nous avons constaté que les propriétés favorisantes de cette dernière bactérie disparaissaient assez vite dans les cultures en milieux artificiels : après un mois de culture le bacille est devenu tout à fait inactif. Le bacille à bouts arrondis n'a jamais favorisé le développement de la septicémie.

L'existence de microbes favorisants démontrée dans la terre, nous avons recherché si différentes bactéries prises dans les milieux extérieurs, les plaies suppurées, etc., pouvaient jouer un rôle analogue.

Le *micrococcus prodigiosus* s'est révélé favorisant très actif; ses cultures, même à très faibles doses et après stérilisation à 100°, injectées avec une trace de spores septiques, ont déterminé le développement de la septicémie et la mort des animaux (cobayes et lapins).

Le staphylocoque doré jouit aussi de propriétés favorisantes, mais à la condition qu'il soit utilisé peu de temps après son passage par l'organisme vivant : tandis qu'un staphylocoque récemment isolé du pus d'un furoncle s'est montré très activement favorisant, nous avons échoué en nous servant de cultures entretenues pendant plusieurs mois au laboratoire.

Un diplocoque rencontré dans le pus d'un abcès spontané, chez un lapin, a aussi, à la dose de 0,3 à 0,5 c. c., favorisé le développement des spores septiques chez le cobaye et le lapin.

Dans les milieux extérieurs, il existe donc des bactéries dont la présence est nécessaire pour la germination des spores dans les tissus sains : grâce à ces associations microbiennes, les quelques germes contenus dans un fragment de terre échappent à l'action destructive des phagocytes, et infectent à coup sûr l'organisme vivant. Ces microbes associés sont beaucoup moins résistants que les spores septiques aux différents agents de destruction; un léger chauffage, le contact des solutions antiseptiques usuelles les tuent facilement. On conçoit dès lors qu'après

souillure d'une plaie par un agent contenant les spores du vibrion, un pansement antiseptique met le patient à l'abri de la gangrène gazeuse : les microbes dont l'association est nécessaire à la germination des spores sont mis dans l'impossibilité de se développer, et celles-ci, abandonnées à elles-mêmes, sont facilement englobées et digérées par les cellules amœboïdes. Ainsi s'explique la disparition presque absolue de la gangrène gazeuse foudroyante devant les méthodes antiseptiques. Les plaies souillées par la terre et principalement les plaies de guerre sont fatalement mises au contact de spores septiques, si répandues dans la nature : l'antisepsie chirurgicale, qui n'a aucune action immédiate sur ces germes, détruit les bactéries favorisantes, et livre les spores sans défense aux phagocytes protecteurs.

B. *Le traumatisme.*

Si grand que soit le rôle des associations microbiennes dans l'étiologie de la septicémie gangréneuse, il ne faut pas oublier la part qui revient à la nature du traumatisme, aux caractères physiques de la plaie. Les faits établis par MM. Vaillard et Rouget, à propos de l'étiologie du tétanos, montrent quelle est l'importance de l'influence de ces facteurs sur la phagocytose ; nous ne pouvions les négliger dans l'étude de la septicémie.

Plaies profondes. — MM. Chauveau et Arloing ont montré que le vibrion septique ne se développe que dans les plaies profondes ; ce fait trouve son explication dans la biologie du vibrion septique : anaérobie strict, le germe ne se cultive qu'en l'absence absolue du contact de l'air. Reprenant sur le cobaye et le lapin les expériences de MM. Chauveau et Arloing, nous n'avons jamais pu infecter des animaux porteurs de plaies superficielles, d'excisions de la peau faites d'un coup de ciseau, par exemple.

Après les recherches de Novy, qui vient de démontrer (*Zeitsch. f. Hygiene* ; 1894 ; T. XVII ; p. 209.) qu'une espèce particulière de vibrion septique se développe sur la gélose inclinée à la condition d'êtreensemencée en même temps que d'autres microbes, tels que le *Proteus vulgaris*, le *Micrococcus prodigiosus*, nous devons rechercher, si, associé à des microbes favorisants, le vibrion de la septicémie gangréneuse ne pouvait infecter des plaies superficielles. Des cobayes et des lapins, après de larges

excisions faites sur la peau du dos, reçurent dans la plaie de fortes doses de cultures de vibrion septique en même temps que les différents microbes reconnus favorisants : jamais la septicémie ne s'est déclarée chez ces animaux.

La profondeur de la plaie est donc une condition essentielle pour le développement de la septicémie gangréneuse.

Nécrose des tissus. — Les spores du vibrion septique, comme celles du tétanos, rencontrent dans les tissus mortifiés des conditions favorables à leur culture. Après injection d'une trace de spores pures sous une eschare obtenue par cautérisation de la peau à l'aide d'un agitateur de verre porté au rouge, le cobaye et le lapin prennent la septicémie et meurent au bout de 20 à 30 heures. C'est la confirmation de l'expérience du bistournage de MM. Chauveau et Arloing.

Une violente contusion, amenant un épanchement sanguin, favorise aussi le développement des spores, mais il est nécessaire que cette contusion amène la mortification des tissus : encore cette expérience ne réussit-elle que chez le cobaye ; dans les mêmes conditions le lapin a toujours résisté.

Fractures. — Le cobaye et le lapin résistent à l'inoculation d'un petit nombre de spores pures dans un foyer de fracture sous-cutanée. Si, au contraire, la fracture est ouverte, compliquée, la mort survient chez le cobaye au bout de 30 à 50 heures ; chez les trois animaux sur lesquels nous avons répété cette dernière expérience, nous avons trouvé, à l'autopsie faite immédiatement après la mort, des microbes étrangers associés au vibrion, au niveau de la fracture ; ces microbes se sont montrés favorisants dans des expériences de contrôle : la perforation de la peau avait joué le rôle étiologique dominant en permettant l'introduction de ces germes.

Corps étrangers. — Après ce que nous avons dit au chapitre IV sur le rôle protecteur des corps étrangers vis-à-vis des phagocytes, il est à peine utile de dire que l'introduction dans une plaie d'une certaine quantité de terre, de sable, mettant les spores à l'abri des leucocytes, peut en permettre la germination ; dans la pratique, cependant, l'introduction de corps étrangers de cette espèce est fatalement liée à celle des microbes favorisants très abondants dans les milieux extérieurs, et auxquels est dévolu le rôle étiologique capital.

ÉTUDE SUR LA PÉNÉTRATION DES MICROBES INTESTINAUX DANS LA CIRCULATION GÉNÉRALE PENDANT LA VIE

PAR M. LE D^r L. BECO

(Travail du Laboratoire d'anatomie pathologique et de bactériologie
à l'Université de Liège).

Depuis que, dans la séance du 20 avril 1863, M. Pasteur montrait à l'Académie des sciences du sang et de l'urine, prélevés à l'état où ils existent dans des organismes sains, et conservés au contact de l'air pur sans s'être modifiés ou putréfiés, les savants discutent sur l'interprétation à donner à cette expérience. Signifie-t-elle que toujours les profondeurs du corps d'un animal sain sont fermées à l'introduction des germes extérieurs, et que, lorsqu'on en rencontre, ces germes sont des germes nocifs, ou du moins en puissance de le devenir? Ne pourrait-il pas y avoir, dans des conditions particulières, qui restent normales en tant qu'elles ne troublent pas sensiblement la santé de l'animal, pénétration à l'intérieur des tissus des microbes qui peuplent d'ordinaire le canal digestif? Cette même pénétration ne pourrait-elle pas se réaliser dans le courant d'une maladie, par suite des changements que cette maladie amène? Cet envahissement subsidiaire de tout ou partie de l'organisme serait alors un épiphénomène, sans relation nécessaire avec la marche de la maladie qui l'a amené.

Dans cet ordre d'idées, Wurtz et Herman¹ ont établi que dans les viscères profonds des cadavres pris au hasard dans les salles d'autopsie, 24 à 36 heures après la mort, on trouve, dans la moitié des cas, le *bacterium coli commune*.

Ces recherches ont été contrôlées par d'autres auteurs, notamment Malvoz², de Rekowsky³, Marfan et Marot⁴. Tous

1. *Archives de médecine expérimentale*, 1891.

2. MALVOZ, Recherches bactériologiques sur la fièvre typhoïde, 1892. *Mémoires Acad. méd. de Belgique*.

3. DE REKOWSKY, *Archives des sciences biologiques de Saint-Petersbourg*, 1892.

4. MARFAN et MAROT, *Gazette hebdomadaire de médecine*, nos 31 et 35, 1893.

admettent, sans le démontrer cependant, que l'envahissement ainsi constaté à l'autopsie s'est effectué pendant la vie.

D'après Lesage et Macaigne ¹, l'envahissement se réaliserait *post mortem* : peut-être commencerait-il dans les dernières heures de la vie, par les voies biliaires; en tout cas, il serait lié aux deux facteurs suivants : altération ou trouble fonctionnel de l'intestin d'une part, d'autre part virulence spéciale du *bacterium coli*. A côté de ces travaux de recherche systématique, la bibliographie renferme un nombre considérable d'observations isolées, consignées dans une Revue de Wurtz ².

Dans quelques-unes d'entre elles, notamment dans celle de Hanot ³, on a décelé le *b. coli* dans une culture du sang ou des organes profonds, faite sur le vivant. Outre que ces observations ne constituent que des faits isolés, nous ferons remarquer que, dans la plupart d'entre elles, on a établi une relation entre la présence du *b. coli* et l'état morbide.

Partant du fait constaté par Wurtz et Herman et des idées de Lesage et Macaigne, nous nous sommes posé les deux questions suivantes :

1^o L'envahissement de la circulation générale par les microbes intestinaux se fait-il pendant la vie ou après la mort?

2^o Cet envahissement est-il lié à l'existence d'affections intestinales, c'est-à-dire d'altérations ou de troubles fonctionnels de l'intestin?

Pour répondre à ces questions, nous avons entrepris des recherches de deux ordres; l'étude bactériologique d'une série de cadavres et quelques recherches expérimentales.

I. — ÉTUDE BACTÉRIOLOGIQUE DES CADAVRES ⁴

Nous avons cultivé la pulpe splénique des cadavres à un moment aussi rapproché que possible de la mort. Ce délai a varié entre 1/4 et 3/4 d'heure. Dans ces conditions, il nous a paru qu'il ne pouvait être question d'un envahissement par putréfaction. La culture a été faite en gélatine et en bouillon. La rate était lais-

1. LESAGE et MACAIGNE, *Archives de médecine expérimentale*, 1892.

2. WURTZ, Le coli-bacille, *Archives de médecine expérimentale*, 1893.

3. HANOT, Ictère hypothermique coli-bacillaire. *Société de médecine et Gazette des hôpitaux*, mai 1894.

4. Cette étude a été faite en hiver pendant les mois de novembre, décembre, janvier, février.

sée en place. Lors de l'autopsie complète, pratiquée en moyenne 24 heures après, nous avons de nouveau cultivé la rate incisée en un point différent. Souvent nous avons ensemencé aussi la pulpe du corps thyroïde et le sang du cœur.

La culture de la rate immédiatement après la mort a été faite 25 fois. La culture de la rate à l'autopsie a été pratiquée chez les 25 mêmes cadavres; nous y ajoutons deux observations supplémentaires.

Nous avons cultivé 41 fois le corps thyroïde et 42 fois le sang du cœur.

Les tableaux suivants donnent le résumé de nos constatations :

I. — *Observations où le B. coli a été trouvé dans la rate, immédiatement après la mort.*

| DIAGNOSTIC ANATOMIQUE | ETAT de L'INTESTIN | RENSEIGNEMENTS CLINIQUES |
|--|--------------------------|-----------------------------|
| Myocardite chronique. Stase..... | Aucune lésion apparente. | Diarrhée intense. |
| Carcinome vésical. Ammoniémie..... | — | Pas de diarrhée. |
| Néphrite chronique. Urémie..... | — | Pas de diarrhée. |
| Carcinome du foie..... | — | Diarrhée. |
| Carcinome de l'estomac..... | — | Diarrhée septique. |
| Infection puerpérale et septico-pyémie..... | Injection. | Diarrhée prolongée. |
| Insuffisance mitrale. Stase..... | Stase intestinale. | Diarrhée modérée. |
| — — et néphrite granuleuse chronique..... | Aucune lésion. | Pas de diarrhée. |
| Néphrite chronique. Urémie..... | — | Pas de diarrhée. |
| Tuberculose pulmonaire..... | Entérite catarrhale. | Diarrhée intense. |
| Néphrite chronique. Urémie..... | Aucune lésion apparente. | Diarrhée modérée. |

II. — *Observations où le B. coli a été trouvé dans la rate du cadavre à l'autopsie et pas de suite après la mort.*

| DIAGNOSTIC | MOMENT de L'AUTOPSIE | ETAT de L'INTESTIN | MICROBES OBSERVÉS | |
|----------------------------------|----------------------------|---|---------------------------|--------------------------------|
| | | | DE SUITE APRÈS LA MORT | A L'AUTOPSIE |
| Erysipèle gangre- neux..... | 39 h. ap. la mort. | Aucune lésion. Pas de diarrhée. | <i>Streptoc. pyogen.</i> | <i>Coli</i> et bacill. liquéf. |
| Insuffisance car- diaque..... | 40 h. — | Inject. intestinale. Diarrhée. | 0 | <i>B. Coli.</i> |
| Tubercul.pulmon. | 28 h. — | Entérite tubercul. Diarrhée notable. | 0 | <i>B. Coli.</i> |
| Tubercul.pulmon. | 26 h. — | Ulcère tuberculeux. Pas de diarrhée. | 0 | <i>B. Coli.</i> |

III. — *Observations où les cultures de la rate ont donné des résultats différents au moment de l'autopsie et immédiatement après la mort, le résultat étant positif dans les deux cas.*

| DIAGNOSTIC | ÉTAT de L'INTESTIN | MOMENT de L'AUTOPSIE | RÉSULTAT APRÈS LA MORT | RÉSULTAT à L'AUTOPSIE |
|--------------------------------|--------------------------|----------------------------|---|--|
| Myocardite. Stase. | Rien à noter. | 34 h. ap. la mort. | <i>B. Coli</i> et <i>staphyl.</i> | <i>B. Coli.</i> |
| Septico-pyémie... | Injection. | 18 h. — | <i>B. Coli</i> ^{pyog.} rares, <i>staphyl.</i> nombreux. | <i>B. Coli</i> nombreux, <i>Staphyl.</i> rares. |
| Insuffisance mi- trale..... | Stase. | 24 h. — | <i>B. Coli</i> et <i>staphyl.</i> | <i>B. Coli.</i> |
| Néphrite chroni- que..... | Rien à noter. | 17 h. — | <i>B. Coli</i> et <i>staphyl.</i> | <i>B. Coli.</i> |

IV. — *Observation où B. coli a été décelé seulement dans le sang du cœur.*

| DIAGNOSTIC ANATOMIQUE | MOMENT DE L'AUTOPSIE | ÉTAT DE L'INTESTIN | RENSEIGNEMENTS CLINIQUES |
|--------------------------|-------------------------|----------------------|-----------------------------|
| Tubercul. pulmonaire.. | 9 heures après la mort. | Ulcères tuberculeux. | Diarrhée notable. |

V. — *Observations où le B. coli a été décelé seulement dans le corps thyroïde (dans sept autres cas il était constaté dans le corps thyroïde en même temps que dans la rate.)*

| DIAGNOSTIC ANATOMIQUE | MOMENT DE L'AUTOPSIE | ÉTAT DE L'INTESTIN | RENSEIGNEMENTS CLINIQUES |
|-------------------------------------|-------------------------|--------------------|-----------------------------|
| Pneumonie franche... | 38 h. après la mort. | Rien à noter. | Pas de diarrhée. |
| Insuffisance mitrale. Stase..... | 25 h. — | » | » |

VI. — *Observations où le B. coli n'a été décelé dans aucun organe.*

| DIAGNOSTIC ANATOMIQUE | MOMENT DE L'AUTOPSIE | ÉTAT DE L'INTESTIN | RENSEIGNEMENTS CLINIQUES |
|--------------------------|-------------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| Tuberculose pulmon... | 18 h. après la mort. | Ulcères tuberculeux. | Diarrhée. |
| Carcinome de l'estomac. | 22 h. — | Rien à noter. | Forté diarrhée prolongée. |
| Syphilis cérébrale.... | 20 h. — | — | Pas de diarrhée. |
| Hémorragie intestinale. | 23 h. — | — | — |
| Carcinome de l'estomac. | 25 h. — | Péritonite séro- fibrineuse. | Diarrhée continue intense. |
| Tubercul. pulmon.... | 24 h. — | Rien à noter. | Pas de diarrhée. |
| Choléra asiatique..... | 17 h. — | Lésions cholériques. | Choléra algide. |

Remarque. — Dans cinq de ces sept observations la culture du corps thyroïde n'a pas été faite.

La première conclusion qui se dégage de notre étude est que nous avons constaté dans 11 cas (tableau I), immédiatement après la mort, la présence du *b. coli* dans la rate. La seule interprétation rationnelle, c'est qu'il y a été amené par la circulation pendant la vie.

Si nous étudions comparativement les cultures de la rate, faites au moment de la mort et les cultures faites à l'autopsie, nous constatons que dans quatre observations seulement, le *b. coli* a été trouvé dans la rate à l'autopsie, alors qu'au moment de la mort les cultures ne l'avaient pas décelé. Il semble tout naturel d'expliquer ce fait en admettant un envahissement *post mortem*. Nous repoussons cette explication.

Tout d'abord on peut se demander *a priori* pourquoi, si l'envahissement est cadavérique, il ne s'effectue pas chez tous les cadavres autopsiés dans les mêmes délais ou plus tard encore. Ensuite, si le *b. coli* franchit les barrières intestinales seulement après la mort, il doit se propager de proche en proche, ou bien suivre les voies lymphatique ou sanguine. Or, dans des recherches analogues, Malvoz¹ ne l'a rencontré ni dans le liquide péritonéal, ni dans les veines mésentériques, ni dans les ganglions.

De plus nous n'avons nullement besoin de l'hypothèse d'un envahissement cadavérique pour expliquer les résultats consignés dans le tableau II. En effet, si nous étudions bactériologiquement la rate au moment de la mort et au moment de l'autopsie, nous rencontrons des différences considérables :

a) A l'autopsie les bouillons se peuplent toujours plus rapidement et plus énergiquement qu'au moment de la mort.

b) Sept fois sur onze cas positifs, nous observons ce fait vraiment étrange que l'ensemencement direct en gélatine restait stérile au moment de la mort, alors qu'à l'autopsie il se montrait fertile. (Disons en passant que sans la culture en bouillons, nous aurions conclu à l'absence de *b. coli* dans ces cas).

c) Quatre fois au moment de la mort, nous constatons une association du *b. coli* et de *staphylococcus*, et à l'autopsie le *b. coli* est presque seul constaté (tableau III).

En résumé, il apparaît que dans les heures qui séparent la mort du moment de l'autopsie, il se fait une multiplication des bacilles du groupe *coli* existant dans la rate au moment de la

1. MALVOZ, *loco citato*.

mort. Cette multiplication (associée peut-être à une vitalité individuelle plus grande) peut être assez considérable pour assurer à ces bacilles la prédominance exclusive au bout d'un certain temps, alors qu'au moment de la mort on les trouvait associés à d'autres espèces.

On admettra parfaitement dès lors que l'on décèle le *b. coli* au moment de l'autopsie, alors qu'au moment de la mort on ne l'avait pas trouvé, sans qu'il soit besoin de recourir à l'hypothèse d'un envahissement *post mortem*.

Disons aussi dès maintenant que ce sont surtout nos recherches expérimentales qui ont déterminé notre manière de voir sur cette question.

Si nous recherchons maintenant les causes déterminantes de l'envahissement pendant la vie, nous voyons que cet envahissement n'est nullement lié à la présence de maladies à localisation intestinale. Dans plus de la moitié de nos cas positifs, l'examen macroscopique ne révélait l'existence d'aucune lésion, et pendant la maladie on n'avait observé aucun trouble fonctionnel de l'intestin. D'autre part, plusieurs fois l'autopsie montrait l'existence de lésions notables, d'ulcérations tuberculeuses, par exemple, la diarrhée avait été forte et prolongée, et nos cultures restaient stériles. Évidemment, il est possible que les conditions déterminantes de l'envahissement se rencontrent au maximum dans les entérites primitives (choléra nostras, infantile...): nous ne contestons pas cela, mais nous insistons seulement sur ce fait que ces conditions se rencontrent aussi en dehors de ces affections.

Quelle est la fréquence de l'envahissement?

Nous avons constaté la présence du *b. coli* de suite après la mort dans 11 cas sur 25. Si l'on admet, comme nous le croyons, que l'envahissement constaté à l'autopsie s'est effectué aussi pendant la vie, nous devons ajouter les observations dans lesquelles les cultures de la rate ont poussé seulement à l'autopsie. Naturellement nous devons aussi tenir compte des observations où nous avons décelé le *b. coli*, non dans la rate, mais dans le sang du cœur ou la pulpe du corps thyroïde. Nous arrivons ainsi à une proportion de 20 cas positifs sur 27 cas examinés. Mais il convient de faire remarquer que dans les 7 cas négatifs, l'examen n'a porté dans 5 cas que sur la rate exclusivement. Peut-être, si le corps thyroïde ou d'autres organes

profonds avaient été examinés, le nombre des cas négatifs aurait-il encore été réduit ! Nous sommes ainsi conduit à nous demander si l'envahissement de la circulation générale par les microbes intestinaux n'est pas un phénomène en quelque sorte banal, se rencontrant dans la grande majorité des cas de mort naturelle, s'effectuant à un moment plus ou moins rapproché ou éloigné de la mort, et intervenant, à un titre quelconque, dans la terminaison fatale.

Les cultures du sang des gros vaisseaux et du cœur ont été fréquemment stériles. — Le fait a été souvent signalé.

Les cultures du corps thyroïde nous fournissent des résultats intéressants. Sur 11 cas, nous avons trouvé le *b. coli* 9 fois, et 2 fois nous ne l'avions pas constaté dans la rate. Il n'y a là rien qui doive étonner ; le corps thyroïde est un organe richement vascularisé, et on sait que les travaux modernes lui attribuent un rôle important dans la défense de l'organisme contre les agents morbides (Abelous) ¹.

A la suite de ces considérations, nous nous croyons autorisé à poser les conclusions suivantes :

1^o L'envahissement de la circulation générale et des organes profonds par les microbes intestinaux se réalise chez beaucoup de malades avant la mort ;

2^o Il n'existe pas une corrélation étroite entre cet envahissement et l'existence d'affections intestinales ;

3^o Il est probable que les microbes que l'on trouve dans les organes profonds, lors des autopsies pratiquées dans les délais habituels, y ont été amenés pendant la vie par la circulation (peut-être y aurait-il lieu de faire des réserves pour les périodes de forte chaleur) ;

4^o Le corps thyroïde paraît être, au même titre que la rate, le foie, la moelle osseuse, un organe de dépôt pour les microbes en circulation dans le sang.

II. RECHERCHES EXPÉRIMENTALES.

Dans les expériences qui suivent, il s'agit d'animaux (des lapins pour la plupart) qui ont été soumis à l'action d'irritants de l'intestin variés, de manière à amener leur mort en un espace de temps déterminé.

1. ABELOUS, *Revue générale des sciences pures et appliquées*, 15 mai 1893.

Après un certain délai, variable suivant les cas, les animaux ont été autopsiés; le sang du cœur et de la veine porte, la pulpe du foie et de la rate ont étéensemencés dans de nombreux bouillons; les bouillons ont été portés à l'étuve à 37°. S'ils se troublaient, on déterminait ultérieurement les espèces par cultures sur les milieux habituels.

§ I.

Trois lapins normaux, en pleine santé, sont sacrifiés brusquement. Les cultures des viscères profonds restent indéfiniment stériles.

§ II.

Nous avons tenu à contrôler sommairement les expériences de Wurtz sur le choléra arsenical.

On administre de l'arsenic à 3 lapins; aux deux premiers, de la liqueur de Fowler en injections sous-cutanées, au troisième, de l'acide arsénieux en ingestion. Mort entre 15 et 30 heures. Chez chacun de ces animaux, bon nombre de bouillons de culture se troublent. Sur plaques on retrouve le *bacillus subtilis*, un streptocoque, le *proteus vulgaris* et le *b. coli*.

Conclusion. Ces expériences confirment pleinement les résultats publiés par Wurtz¹.

§ III.

Nous nous sommes demandé si d'autres irritants de l'intestin n'avaient pas, comme l'arsenic, la propriété de provoquer le passage des microbes intestinaux dans la circulation.

Nous nous sommes adressé d'abord à la cantharide et à la cantharidine. Nous avons administré l'une ou l'autre de ces substances par la bouche à 1 chien et 4 lapins. La mort est arrivée au bout de 6 jours, 24 heures, 20 heures, 5 jours, 12 heures.

Autopsie presque immédiate. Chez tous les animaux elle révèle un catarrhe gastro-intestinal hémorragique violent.

Chez un lapin qui a vécu seulement 12 heures, toutes les cultures sont restées stériles. Chez les 3 autres et chez le chien, elles ont donné des résultats sensiblement analogues à ceux qui ont été consignés dans le § précédent. Attendu que ces cultures

1. Wurtz, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, n°s 39 et 40, 1892.

ont été faites à un moment très rapproché de la mort, nous pouvons conclure que *l'ingestion de cantharidine à dose courable détermine le passage des microbes intestinaux dans la circulation.*

§ IV.

Nous avons ensuite employé l'émétique, et les expériences que nous avons faites avec ce produit ont porté sur un nombre beaucoup plus considérable d'animaux (27 lapins).

L'émétique présente en effet beaucoup d'avantages sur la cantharidine. Sa toxicité est infiniment moindre, sa solubilité notablement supérieure; on peut plus facilement graduer les effets à obtenir; enfin on peut administrer par voie sous-cutanée.

A. Nous nous posons d'abord la question suivante :

L'émétique détermine-t-il le passage des microbes intestinaux dans le sang pendant la vie?

L'expérience porte sur 7 lapins auxquels on administre de l'émétique en injections sous-cutanées, de manière à amener la mort en un délai de 2 1 2 à 7 jours. L'autopsie et aussi les cultures des viscères sont faites à un moment très rapproché de la mort, même chez quatre animaux alors que le cœur se contracte encore. L'autopsie montre l'existence d'un catarrhe gastro-intestinal assez intense, moindre cependant que la gastro-entérite déterminée par l'arsenic ou la cantharide.

Chez tous les lapins, la plupart des bouillons de culture se troublent, et nous y trouvons associées un certain nombre d'espèces microbiennes qui toutes se rencontrent dans l'intestin, ainsi que nous nous en sommes plusieurs fois assuré.

Nous croyons pouvoir conclure de ces expériences que : *l'émétique administrée en injections sous-cutanées, en espaçant les doses de telle manière que la mort arrive dans un délai minimum de 2 1 2 à 3 jours, détermine chez les lapins le passage des microbes intestinaux dans la circulation.*

B. 6 lapins sont intoxiqués par l'émétique, la mort arrive dans un délai maximum de 24 heures; autopsie presque immédiate, les cultures sont toutes stériles.

Conclusion : Chez les lapins intoxiqués par l'émétique, lorsque la mort arrive dans un délai de 24 heures, les cultures des organes profonds et du sang restent stériles.

C. 9 lapins sont intoxiqués rapidement comme dans les expériences B.

Après leur mort, ils sont abandonnés dans une chambre à une température de 14 à 16° pendant les laps de temps respectifs suivants : 24 heures, 28 heures, 36 heures, 3 jours, 4 jours, 4 jours 1/2, 5 jours 1/2, 6 jours et 9 jours ; puis il sont autopsiés.

Lésions de putréfaction peu avancées. On cultive les viscères profonds. Les bouillons abandonnés pendant un temps très long à l'étuve ne se sont pas troublés.

Conclusion : Chez les lapins intoxiqués par l'émétique, si l'envahissement du sang par les microbes intestinaux ne s'est pas effectué pendant la vie, il ne peut se faire que très tardivement après la mort.

Ce sont ces faits auxquels nous faisons allusion dans les conclusions de l'étude bactériologique des cadavres (page 6). Lorsque nous constatons que chez des lapins dont l'intestin a été irrité, dont les cadavres ont été exposés à une température moyenne de 15°, la rate après 5, 6, 9 jours même, ne renferme pas de microbes intestinaux, il nous semble difficile d'admettre que chez des cadavres humains abandonnés pendant 24 ou 36 heures à une température en dessous de 5°, l'envahissement de la rate puisse se faire *post mortem*.

D. 5 lapins sont intoxiqués lentement par l'émétique comme dans les expériences A. Après la mort, on abandonne les cadavres pendant 1 jour 1/2 à 2 jours, à la température de 15°. Alors seulement on fait l'autopsie et les cultures. La plupart des bouillons se troublent, et dans les plaques nous ne retrouvons exclusivement que le *b. coli*.

Conclusion : Chez les lapins intoxiqués lentement par l'émétique, le b. coli amené pendant la vie dans les organes profonds, pullule après la mort et étouffe les espèces associées.

Remarque. — Chez les cadavres humains nous avons pareillement constaté après la mort la réduction des espèces microbiennes et la prédominance du *b. coli* (page 6).

EN RÉSUMÉ. — Nos expériences sur l'intoxication par l'émétique établissent les points suivants :

Chez les lapins : A. L'intoxication lentement mortelle détermine l'envahissement de la circulation par les microbes intestinaux pendant la vie.

B. *L'intoxication rapidement mortelle ne détermine pas cet envahissement.*

C. *Si l'envahissement de l'organisme par les microbes ne s'est pas produit au moment de la mort, il ne s'opère que très tardivement sur le cadavre intact.*

D. *Le B. coli ayant envahi l'organisme pendant la vie se multiplie dans les organes après la mort et prédomine sur les espèces associées.*

RÉFLEXIONS

Nous croyons avoir démontré que l'envahissement du sang et des organes profonds par les microbes intestinaux se réalise chez un grand nombre d'individus avant la mort. De plus, on ne peut voir dans ce fait rien de spécifique, c'est-à-dire qu'on ne peut faire de cet envahissement un symptôme exclusif, spécial à certaines maladies microbiennes à localisation intestinale primitive.

Quelle est l'importance pratique de ces conclusions ?

En terminant leur mémoire, Wurtz et Herman¹ faisaient remarquer, qu'en tenant compte de la présence si fréquente du *B. coli* dans les organes des cadavres morts d'affections quelconques, il ne fallait accepter qu'avec réserve les résultats d'autopsie attribuant au *B. coli* la cause de la mort. Cette conclusion, nous l'avons corroborée en établissant, par des faits cliniques et expérimentaux, que dans les organes où la circulation l'a amené, le *B. coli* pullule après la mort et étouffe les espèces associées. Une observation récente de Charrin et Veillon² est sous ce rapport typique. Mais il y a plus. Attendu que l'infection des organes profonds par le *B. coli*, constatée à l'autopsie, se fait, dans la plupart des cas, sinon dans tous, pendant la vie, nous nous croyons en droit de donner à la conclusion de Wurtz et Herman une portée plus considérable et de la formuler ainsi :

On ne peut se baser uniquement sur la présence du B. coli dans le sang et les organes profonds, alors même qu'elle est constatée avant la mort, pour établir une relation entre ce microbe et la maladie.

1. WURTZ et HERMAN, *loco citato*.

2. CHARRIN et VEILLON, *Comptes rendus de la Soc. de Biol.*, 5 janvier 1894.

ESSAIS DE VACCINATION ANTIRABIQUE

AVEC LE VIRUS ATTÉNUÉ PAR LA CHALEUR

PAR MM. E. PUSCARIU ET M. VESESCO

(Travail de l'Institut antirabique de Jassy.)

Personne ne doute plus aujourd'hui de l'efficacité de la méthode de vaccination antirabique créée par M. Pasteur, et nous en avons tiré les meilleurs résultats ici, dans une pratique de 3 ans et demi, pendant lesquels nous avons traité 460 personnes. Elle présente pourtant quelques inconvénients, sensibles surtout dans les instituts mal pourvus de ressources : la stérilité des moelles est difficile à obtenir ; leur diminution de virulence dépend de la marche de la dessiccation, qui dépend à son tour de la température, de l'état hygrométrique de l'air et de la grosseur du fragment. Enfin l'obligation d'avoir en réserve ce qu'il faut de moelles pour parer à l'imprévu augmente les dépenses, souvent en pure perte. C'est pour cela que nous avons entrepris, avec la collaboration de M. le Dr Lebell, assistant de l'Institut, une série de recherches destinées à obvier à quelques-uns de ces inconvénients.

1. ESSAIS DE VACCINATION AVEC DES ÉMULSIONS DE VIRUS FIXE CHAUFFÉES A 80°.

Le point de départ de ces essais a été une observation faite par l'un de nous et M. Babes¹, sur la possibilité de vacciner avec une émulsion de virus fixe chauffée à 80°, et appliquée à doses croissantes. Nous avons commencé par répéter l'expérience sur une plus large échelle. Un cerveau de lapin, mort de rage, est trituré dans un mortier avec 100 c. c. d'eau stérilisée ; l'émulsion, filtrée au travers d'un linge stérilisé, est maintenue 15 minutes dans un bain-marie à 80°.

1. Ces *Annales*, 1889.

1^{re} EXPÉRIENCE. — Trois chiens reçoivent quotidiennement, pendant 10 jours, des doses de cette émulsion commençant par 5 c. c. pour arriver à 50 c. c. Le 7^e jour du traitement, ils sont infectés par trépanation avec le virus des rues, en même temps qu'un chien de contrôle et deux lapins. Ces trois animaux meurent de rage 16 et 17 jours après l'infection. Sur les chiens vaccinés, deux résistent; le 3^e meurt de rage le 24^e jour après l'infection.

2^e EXPÉRIENCE. — Deux chiens et deux lapins de contrôle reçoivent par trépanation du virus des rues. Les chiens subissent ensuite le même traitement que ceux de la première expérience. Les deux lapins meurent 25 et 27 jours après la trépanation; l'un des deux chiens meurt rabique 30 jours après l'infection; l'autre chien était mort le 27^e jour, sans symptômes rabiques.

3^e EXPÉRIENCE. — Le 15 mars 1893, trois chiens reçoivent le même traitement que ceux de la première expérience; trois autres reçoivent, pendant deux périodes successives de 4 jours, 5, 10, 15, 20 c. c. d'émulsion chauffée à 80°; puis, après un repos d'un jour, et pendant 5 jours, 10 c. c. de la même émulsion. Le 30 mars, tous ces chiens, et un chien et deux lapins de contrôle, sont inoculés, dans la chambre antérieure de l'œil, par le virus des rues. Les animaux de contrôle meurent de 18 à 21 jours après l'infection. Trois des chiens vaccinés meurent rabiques, dont un de la première série et deux de la seconde. Les trois autres restent bien portants.

4^e EXPÉRIENCE. — Onze chiens sont injectés, le 29 décembre 1893, par du virus des rues dans la chambre antérieure de l'œil. Neuf d'entre eux reçoivent en 15 jours les doses suivantes d'émulsion chauffée : 5, 10, 15, 20, 10, 15, 20, 10, 15, 10, 10, 10, 10 c. c. Les deux autres restent comme chiens de contrôle. Ces derniers meurent du 23^e au 24^e jour après l'infection. Parmi les autres, cinq meurent de 25 à 28 jours après l'infection, quatre restent bien portants.

Les émulsions chauffées à 80° sont donc impuissantes à vacciner sûrement les chiens contre la rage; mais comme leur bon effet n'est pas douteux, après les expériences qui précèdent, nous les avons fait entrer peu à peu comme adjuvants du traitement de M. Pasteur, et nous les substituons maintenant au bouillon dans lequel sont émulsionnées les moelles. Voici quelques chiffres donnant une idée des résultats de cette pratique :

Du 6 août 1891 au 16 juillet 1893, on s'est contenté d'injecter 10 c. c. d'émulsion chauffée dans le cas de morsures graves faites par des loups. Il y a eu une mort survenant plus de 15 jours après le traitement, sur 244 traités, soit 0,41 0/0. — Du 13 juillet 1893 au 24 novembre 1893, on a préparé avec de l'émulsion chauffée toutes les moelles à partir de celle de 4 jours. Mortalité 0, sur 47 traités. — Du 25 novembre 1893 jusqu'à aujourd'hui

toutes les moelles étant préparées avec l'émulsion chauffée, il y a eu 169 traités, n'ayant fourni aucune mort.

Il faut attendre que cette statistique porte sur un plus grand nombre de cas pour en tirer une conclusion solide. On voit pourtant dès à présent que cette introduction de l'émulsion chauffée dans le traitement amène de bons résultats, puisque, sur 215 cas, la mortalité a été nulle.

II. ESSAIS DE VACCINATION AVEC DES ÉMULSIONS DE VIRUS FIXE CHAUFFÉES A DIVERSES TEMPÉRATURES.

Les résultats obtenus avec l'émulsion chauffée à 80° nous ont fait penser à étudier les propriétés virulentes d'une échelle d'émulsions chauffées à diverses températures, dans l'espoir d'en tirer un nouveau système de vaccination. Voici le résumé des recherches que nous avons faites dans cette direction :

1^{re} EXPÉRIENCE. — Le 19 février 1894, le cerveau d'un lapin mort de rage à virus fixe est émulsionné dans 100 c. c. d'eau stérilisée, et l'émulsion est partagée entre neuf éprouvettes, qu'on laisse dix minutes dans un bain-marie chauffé aux températures marquées au tableau ci-dessous. Aussitôt après on inocule 3 gouttes du liquide de chacune de ces éprouvettes aux lapins de la colonne n° 3; leur sort est inscrit dans la colonne n° 4.

| Éprouvettes. | Températures. | Lapins. | Résultats. |
|--------------|---------------|-------------|--------------------------------|
| 1 | 80° | I | Survie. |
| 2 | 70° | II | — |
| 3 | 60° | III | — |
| 4 | 50° | IV et V | Morts au bout de 14 jours 1/2. |
| 5 | 45° | VI et VII | — — 11 — |
| 6 | 40° | VIII et IX | — — 10 — |
| 7 | 35° | X et XI | — — 9 jours 1/2. |
| 8 | 30° | XII et XIII | — — 9 — |
| 9 | Non chauffée. | XIV | — — 8 — |

Le virus est donc tué entre 50° et 60°, et sa destruction est précédée d'une atténuation sensible. Une seconde expérience, faite le 5 mars, a donné à peu près les mêmes résultats.

Voici maintenant ce qu'a donné cette échelle de substances virulentes dans la vaccination des animaux :

2^e EXPÉRIENCE. — Le 18 mars, 10 chiens sont infectés par voie intra-oculaire. Ils forment trois groupes.

Le premier, composé de 4 chiens, reçoit par jour deux injections de 2 grammes chacune, des émulsions 2 à 9, en répétant chaque matin le dernier numéro de la veille : par exemple, le 1^{er} jour 2 et 3 ; le lendemain 3

et 4, et ainsi de suite. On recommence ensuite une série de 2 à 9 sans répétition; on termine par une dernière série identique à la première. Ces quatre chiens sont restés bien portants.

Un second groupe de 4 chiens a subi la première série de vaccinations comme le groupe précédent. Pour la seconde série, au lieu d'aller de 2 à 9, on est revenu de 9 à 2. Deux de ces chiens ont succombé, le premier à une maladie intercurrente, le second à la rage, 24 jours après l'infection.

Le troisième groupe était celui des animaux de contrôle, injectés, mais non vaccinés. Ils sont morts 20 et 22 jours après l'infection.

Le traitement s'est donc montré efficace. Pour l'abréger, nous l'avons appliqué d'une manière plus intensive dans l'expérience suivante :

3^e EXPÉRIENCE. — Le 20 mai 1894, 9 chiens sont infectés dans la chambre antérieure de l'œil avec le virus des rues. 8 d'entre eux sont ensuite soumis au traitement suivant :

Le premier jour, on leur injecte 2 c. c. de chacune des émulsions de 1 à 4. Le second, on leur injecte de même les émulsions de 4 à 9. Le troisième jour, nouvelle série de 7 injections. Dans les quatre jours suivants, nouvelle série en répétant deux fois le même numéro. Enfin, les six jours suivants, on injecte la série entière. En tout 13 jours de traitement. De ces chiens, 2 seulement meurent rabiques 20 et 25 jours après l'infection. Le chien de contrôle était mort 18 jours après l'infection.

4^e EXPÉRIENCE. — Analogue à la précédente et portant sur 10 chiens dont un, gardé comme animal de contrôle, meurt rabique, de même que deux chiens infectés, puis vaccinés. Un autre chien meurt d'une maladie intercurrente. Les six autres demeurent bien portants.

On peut donc conclure qu'il est possible de préserver de la rage des chiens infectés par le virus des rues, en leur injectant des émulsions chauffées d'une moelle rabique. Il reste à étudier de plus près cette atténuation produite par l'action de la chaleur, qui semble plus sûre et plus régulière que l'atténuation produite par la dessiccation, et dont l'utilisation ferait disparaître quelques-unes des difficultés que rencontre l'emploi de la méthode Pasteur dans quelques Instituts antirabiques.

(Décembre 1894.)

REVUES ET ANALYSES

AMIDONS, DEXTRINE ET MALTOSÉ

REVUE CRITIQUE

Le spectacle auquel nous avons assisté en étudiant la saccharification de l'amidon ne laisse pas que d'être curieux. Au début, le phénomène semble simple, et Payen le résume en disant : une molécule d'amidon devient par transposition isomérique, sans rien perdre ni rien gagner, une molécule de dextrine ; puis celle-ci devient une molécule de sucre en s'ajoutant une molécule d'eau. Cette conception s'implantait tout doucement dans la science quand arrive Musculus, qui la combat avec des expériences inexactes et mal interprétées, mais en apportant une idée nouvelle, c'est que la saccharification est le résultat d'un dédoublement : ce n'est pas *une seule* molécule d'amidon qu'il faut envisager comme donnant successivement, par des actions indépendantes, quoique consécutives, une molécule de dextrine d'abord, une molécule de maltose ensuite : ce sont plusieurs molécules d'amidon groupées qui se séparent à la fois les unes des autres, pour donner les unes du maltose, les autres de la dextrine.

Les travaux faits depuis nous ont conduit à faire, de ce groupe initial de molécules d'amidon, quelque chose de très complexe et de très volumineux, si nous voulons qu'il puisse suffire à expliquer la multitude de débris variés qu'il donne en se disloquant et en s'écroulant. La physionomie simple que présentait, à son entrée dans la science, la conception de Musculus, a donc aussi disparu à son tour, et les théories qui veulent lui rester fidèles se représentent, à l'heure actuelle, la molécule d'amidon comme un livre plus ou moins gros, pouvant s'effeuiller sous l'action de la diastase, et donner, en proportions variables suivant les cas, des feuillets de dextrine et des feuillets de maltose. Je me trompe : si nous avons le droit de parler de feuillets de maltose, parce que dans le maltose il n'y a que deux groupements de sucre $C^{12}H^{22}O^{11}$, soudés par l'élimination d'une molécule d'eau, et représentant les deux pages imprimées dos à dos sur le feuillet du livre, nous n'avons pas le droit de parler de même des dextrines, que nous

savons être plus complexes, et dont le poids moléculaire nous a paru comporter l'équivalent de 18 molécules de maltose: de sorte que, toujours dans notre conception schématique, les dextrines seraient des *feuilles* d'un livre in-18, qui resteraient intactes pendant la saccharification de l'amidon, pendant que d'autres feuilles se disloqueraient en *feuillets* de maltose.

Cette conception, plus compliquée que les précédentes, n'est à son tour pas suffisante pour ceux qui admettent que toutes les dextrines produites à diverses températures ne sont pas identiques et présentent des différences foncières. Il faut alors admettre qu'il peut y avoir des dextrines à plus de 18 feuillets, et une fois dans cette voie, on peut aller aussi loin qu'on veut, suivant le degré d'importance qu'on ajoute aux différences que l'expérience relève entre les diverses dextrines.

Il est bien entendu que c'est *en gros* seulement que j'expose la théorie de la dislocation de la molécule d'amidon: je veux la débarrasser des schémas un peu rébarbatifs sous lesquels on la masque d'ordinaire. Ils n'en disent pas beaucoup plus long que notre représentation sous la forme d'un livre, et ils sont beaucoup moins clairs. Je continuerai en disant que tous les savants ne sont pas d'accord sur la façon dont est broché le livre. Les diverses feuilles, les divers feuillets sont-ils simplement rapprochés par un peu de colle sur le dos de la brochure, ce qui les rend aussi faciles à disloquer que des livres du jour de l'an? Ou bien sont-ils cousus, et dans ce cas le fil de couture est-il de même résistance partout? N'a-t-il pas, de placé en place, des points faibles où il se brise plus volontiers? Voilà une foule de questions qu'on s'est posées sans leur avoir encore trouvé autre chose que des embryons de réponses, et que nous passerons par suite sous silence.

Toujours est-il que, dans cette conception, nous trouvons à la fin des différences qui n'existaient pas au début. Le livre qui nous sert de point de départ est implicitement supposé être toujours le même, c'est le groupement moléculaire d'amidon, le mot amidon représentant une individualité chimique aussi nette que la saccharose ou le chlorure de sodium. Et c'est ce groupement moléculaire supposé toujours identique à lui-même qui, en se disloquant de façons différentes, donne lieu à toutes les différences de *quantité* dans le maltose, de *quantité* et de *qualité* dans les dextrines, les différences de qualité étant rattachées au nombre de feuillets restés adhérents pour former une molécule de ces dextrines. Mais il est bizarre de voir, dans cette conception, des différences dans le nombre des feuillets créer des différences entre des dextrines, et ces différences s'effacer quand le livre est reconstitué

en entier. Qu'on ne croie pas que mon objection n'a de valeur que par l'image qui me sert à la traduire. On peut la recommencer avec l'une quelconque des formes *savantes* données à la théorie de la dislocation de la molécule d'amidon : elle aura un autre énoncé, mais elle restera la même, car elle revient à ceci : comment disparaissent, dans la molécule d'amidon, les différences que l'expérience découvre, et que la théorie consolide entre les molécules des diverses dextrines ?

Ce raisonnement nous conduit à rechercher s'il n'y en aurait pas de pareilles dans les molécules d'amidon. Si nous en trouvons, voici ce que nous y gagnons, c'est qu'elles sont préexistantes à la saccharification, et que celle-ci n'est pas chargée de les expliquer. Peut-être trouverons-nous quelque simplification dans l'aspect du phénomène, en essayant de marcher dans cette voie. Bien qu'elle n'ait pas été fréquentée, je n'hésite pas à m'y aventurer.

II

Un fait apparaît tout d'abord, que les premières observations avaient laissé dans l'ombre : c'est l'inégalité des divers amidons. O'Sullivan avait cru que l'extrait de malt n'agissait pas à la température ordinaire sur l'amidon non gélatinisé. Baranetzky ¹ a montré que cela n'était vrai qu'avec l'amidon de pommes de terre dont s'était servi O'Sullivan, mais que les autres amidons étaient plus facilement attaquables, même à froid. Lintner a donné les chiffres suivants pour les proportions en centièmes de l'amidon qui reste inattaqué lorsque, sans le gélatiniser à l'avance, on le traite par le malt à différentes températures.

| | Température d'attaque. | | | | Température de gélatinisation. |
|---------------------|------------------------|------|------|------|--------------------------------|
| | 50° | 55° | 60° | 65° | |
| Pomme de terre..... | 0.1 | 5.0 | 52.7 | 90.3 | 65° |
| Orge..... | 12.1 | 53.3 | 92.8 | 96.2 | 80° |
| Malt vert..... | 29.7 | 58.6 | 92.1 | 96.2 | » |
| Malt touraillé..... | 43.0 | 56.0 | 91.7 | 93.6 | » |
| Froment..... | » | 62.2 | 91.1 | 94.6 | 75-80° |
| Riz..... | 6.6 | 9.7 | 49.7 | 34.4 | 80° |
| Mais..... | 2.7 | » | 48.5 | 54.6 | 75° |

On voit qu'il ne se dissout pas les mêmes quantités des divers amidons aux mêmes températures. On voit aussi que le phénomène n'a aucun rapport avec la température de gélatinisation, car l'amidon de pomme de terre, qui se gélatinise à 65°, est, à toutes les températures, même à celle de sa gélatinisation, plus résistant que l'amidon d'orge qui se gélatinise à 80°. De même l'amidon de riz, qui se gélatinise aussi à 80°, est trois fois plus résistant à 65° que l'amidon d'orge.

Il y a plus, ces inégalités de résistance se retrouvent dans un même

1. *Die Stärkeumbild. Fermente in d. Pflanzen.* Leipzig, 1878.

granule, et c'est ici le cas de rappeler la façon dont ces granules se dissolvent à froid, tant sous l'influence de l'amylase que sous celle des acides, ou sous les deux actions combinées. Parfois l'attaque a lieu par la périphérie et concentriquement, révélant ainsi une homogénéité parfaite du granule : mais cela est rare. Le granule est en général corrodé irrégulièrement, et prend, avant de disparaître, les formes les plus variables. D'autres fois, il se creuse, dès l'origine, de trous, de canaux ou de fentes radiées irrégulières, témoignant de l'existence de places ou de régions de moindre résistance, et confirmant ainsi les idées les plus récentes sur la constitution du globule d'amidon, idées d'après lesquelles le granule ne s'accroîtrait pas seulement par intussusception, comme le croyait Nægeli, mais aussi par recouvrements successifs, de façon que sa surface présente des régions inégalement tassées et inégalement compactes.

Il est bien entendu que si on chauffe ou si on gélatinise, ces différences dans le degré d'agrégation doivent tendre à disparaître. Elles n'atteignent pas la molécule chimique : l'amidon plus ou moins cohérent reste de l'amidon, et s'il passe à la cellulose quand la cohésion a atteint et dépassé un certain degré, Payen nous a appris, comme nous l'avons signalé dans notre première Revue, la façon simple de revenir de la cellulose à l'amidon colorable par l'iode. D'un autre côté, les observations de Fitz, de Grimbert, nous ont montré que l'on pouvait également revenir de l'amidon à la cellulose.

Toutefois, si la gélatinisation ne fait pas disparaître absolument toutes les différences de compacité dans les diverses parties du granule, puisqu'on les voit reparaitre quand on refroidit l'empois, elle les atténue sensiblement. Il y a encore des différences dans le degré de résistance des divers empois à l'action d'une même quantité de diastase à différentes températures, mais elles sont moindres que celles que révèlent les nombres de Lintner, reproduits plus haut, entre les divers amidons non gélatinisés. Je ne sais pas de travail fait spécialement sur ce sujet, et dont je pourrais citer les résultats. Je ne m'appuie que sur ce qu'enseigne l'observation courante des phénomènes de saccharification, et je ne crois pas qu'aucun chimiste connaissant ce sujet conteste mes conclusions.

Pour faire disparaître toute différence dans le degré de compacité des divers amidons et des diverses parties d'un même granule d'amidon, il faut avoir recours à l'action des acides, naturellement dans les conditions où ils ne fournissent pas de glucose ou en donnent peu, c'est-à-dire en les faisant agir à froid sur de l'amidon cru, et en laissant à l'action, lente dans ces conditions, le temps de s'accomplir. On tombe alors sur l'*amylodextrine* de Nægeli, produite en laissant en contact,

pendant quelques mois, de l'amidon cru avec une solution contenant environ 12 0/0 d'acide chlorhydrique. Rien ne change, en apparence, jusqu'au 20^e jour : puis on voit peu à peu le granule se disloquer, ne plus se colorer qu'en violet par l'iode, puis en rouge brun, puis en jaune rougeâtre. Une partie passe en solution : l'autre, qui représente une fraction notable de l'amidon employé, reste comme résidu. On la purifie en jetant sur un filtre, lavant à fond, et redissolvant dans l'eau chaude. En refroidissant à 0° la solution, il se précipite une poudre brillante, formée de sphérocristaux analogues à de l'inuline, et dont l'homogénéité est évidemment très grande. Leur pouvoir rotatoire est de 206° et leur pouvoir réducteur est de 40 environ, ce dont on pourrait conclure qu'il y a environ 15 0/0 de maltose. Mais Brown et Morris regardent ce corps comme un composé défini, à cause de son aspect cristallin, et de ce qu'on ne le dissocie ni par précipitation fractionnée ni par dialyse. En outre il n'est pas fermentescible. Peu importe du reste, au point de vue auquel nous nous sommes placés, qu'il contienne ou non du maltose. Il suffit qu'il y ait une forte proportion de matière jouissant des propriétés des dextrines, mais pourvue d'une homogénéité que les dextrines ne possèdent pas.

Il est bien entendu que ce dont je parle ici, c'est de l'homogénéité physique, c'est du degré de cohérence, de quelque chose d'analogue au degré de coagulation. La caséine coagulée et la caséine en suspension dans le lait, l'albumine de l'œuf cuit et celle de l'œuf cru sont encore de la caséine et de l'albumine, et toutes les chinoiseries qu'on a accumulées autour de l'interprétation de ces phénomènes n'ont fait que les compliquer sans les rendre plus clairs. Tout ce que je veux dire, c'est qu'il y a entre les divers amidons ou les diverses parties d'un même amidon des différences analogues. Je n'aborde pas pour le moment la question de savoir comment se produit cette condensation, ce rapprochement des molécules. Y a-t-il seulement soudure par attractions mutuelles, à la façon du mode de rapprochement des molécules dans un cristal ? Y a-t-il adhésion moléculaire entre des molécules hétérogènes, à la façon de l'eau qui s'attache au verre ou de la matière colorante qui se fixe sur un tissu ? Y a-t-il soudure chimique, par élimination d'une molécule d'eau comme dans le cas de la soudure d'une molécule de glucose et d'une molécule de lévulose pour faire une molécule de saccharose, ou par un autre mécanisme ? C'est ce que je ne recherche pas pour le moment. Tout ce que je voudrais, c'est faire accepter que ces modes de jonction, quels qu'ils soient, sont plus ou moins solides, plus ou moins résistants, que la gélatinisation ne les fait pas tous disparaître, et que c'est dans l'amylopectine de Nageli, encore plus que dans l'amidon soluble, qu'ils sont les plus

uniformisés. Le jour où on aurait un amidon cristallisé, les liens de jonction existeraient peut-être encore, mais leurs différences auraient disparu.

III

Cela posé, voyons comment se traduisent ces inégalités dans la cohésion, quand on fait intervenir la diatase de l'orge, et pour cela, commençons par cette amylopectine homogène dont nous venons de parler. Ici, le résultat est très net : sous l'influence de l'amylase, l'amylopectine se transforme intégralement en maltose : le pouvoir rotatoire tombe rapidement de 206° à 191° , et il n'y a dans le résidu aucune trace sensible de dextrine. De plus, la loi d'augmentation du maltose est la loi générale de l'action des diatases, la loi logarithmique. Quand la quantité d'action est, à chaque instant, proportionnelle à la quantité de matière pouvant subir cette action, la quantité de matière transformée augmente proportionnellement au logarithme du temps. Or c'est ce qu'on vérifie assez nettement¹ sur la courbe donnée par Brown et Morris dans leur mémoire sur la saccharification de l'amylopectine. En somme, nous avons là un phénomène simple, tout à fait assimilable au phénomène d'interversion du saccharose, c'est-à-dire d'un produit pur, toujours identique à lui-même dans toutes ses parties. L'amylopectine semble lui ressembler à ce point de vue, et ne nous fournit aucune trace de ces dextrines résiduelles qu'on obtient avec les empois dans les conditions ordinaires.

Si ces dextrines traduisent des différences dans le degré de gélification des divers amidons par l'eau bouillante, on devrait, il semble, relever entre les divers empois, traités par une même quantité d'amylase, des différences analogues à celles que nous avons vu sortir plus haut des expériences de Lintner. Je ne sache pourtant pas que l'expérience ait été faite, et il faut dire qu'elle serait plus difficile qu'avec l'amidon cru. Quand l'empois est liquéfié, ce qui arrive au bout des 2 ou 3 premières minutes de contact avec l'amylase, il est presque impossible de séparer la dextrine qui augmente de l'amidon qui n'a pas encore disparu. Les deux se précipitent ensemble sous

1. La formule de l'action est $y = y_0 e^{-Kt}$, où t est le temps, compté à partir du moment où la quantité y d'amylopectine était y_0 ; K doit être une constante si la formule est applicable. Or, sur la courbe dressée par Brown et Morris, on trouve, en prenant pour y et y_0 les pouvoirs rotatoires à l'origine et au temps t , et en prenant la diminution d'amylopectine comme mesurée par la diminution des pouvoirs rotatoires, $K = 0,36$ pour $t = 5$ minutes, de même que pour $t = 10$, c'est-à-dire pour la période de la réaction pendant laquelle les mesures sont les plus précises. En deçà, le temps est trop court : au delà, la réaction trop lente. On arrive aux mêmes conclusions en partant des nombres de Kjeldahl. (*Nitrobelser fra Carsberg laboratoriet*, 1879.)

l'action de l'alcool, et ont des propriétés physiques ou chimiques trop voisines pour que l'analyse du mélange soit possible.

Il faut donc renoncer jusqu'à nouvel ordre à apprécier autrement qu'en gros, ainsi qu'on le fait par l'expérience journalière, les différences qui existent certainement entre les divers empois d'amidon, au sujet de leur résistance à l'action de l'amylase, et qui doivent se traduire par un retard dans la saccharification des portions d'amylodellulose les plus cohérentes, et même éventuellement par un arrêt au niveau dextrine pour les parties les plus compactes. Nous voyons ainsi apparaître dans un ordre logique toute la série des phénomènes de la saccharification : au premier abord la liquéfaction de l'empois, très rapide, presque instantanée, qui est la destruction de l'état muqueux, la dissolution d'un coagulum analogue à celles qu'amènent dans un coagulum de phosphate tribasique de chaux quelques gouttes d'acide ou de citrate d'ammoniaque; puis la saccharification commence sur les portions les plus labiles de l'empois : à mesure que celles-ci se transforment en dextrine d'abord, en isomaltose et en maltose ensuite, de nouvelles masses amylacées sont attaquées, et fournissent leur contingent de dextrine et de sucres. Ce n'est guère qu'au moment où l'iode ne donne plus de réaction que l'amidon a disparu; mais alors il reste encore des dextrines provenant des portions les plus difficilement attaquables, et dont quelques-unes sont tellement lentes à disparaître qu'on les retrouve comme résidu à la fin de l'opération, lorsqu'on l'interrompt au moment où sa première rapidité a cessé, et où le mélange semble devenu inerte. En réalité l'action s'y continue plus lente, surtout si l'amylase active y est protégée contre l'oxydation ou la coagulation par la chaleur, car si elle se détruit pendant la réaction, non par suite de la réaction elle-même, mais par suite des circonstances qui l'accompagnent, il ne faut pas s'étonner que la saccharification s'immobilise et s'arrête à un niveau donné.

Cette conception qui établit, entre le point de départ et le point d'arrivée, toute une série de gradations insensibles et qui laisse prévoir une foule d'états d'équilibre terminaux, est au premier abord en contradiction apparente avec l'expérience qui nous montre, au contraire, dans les expériences de O'Sullivan, de Mærcker, de Brown et Heron, toute une série d'échelons inégalement distants, mais tous d'une hauteur fixe et déterminée. Mais j'ai fait remarquer, lorsque j'en ai parlé, qu'il y avait une bonne part de fantasmagorie dans l'établissement de ces échelons : on les a trouvés parce qu'on les a cherchés, qu'on s'est dit *a priori* qu'ils devaient être séparés les uns des autres par l'épaisseur d'au moins une molécule d'amidon, et peut-être davantage. C'est la théorie de la dislocation qui avait fait naître cette idée :

d'une molécule d'amidon unique, mais complexe, il fallait faire sortir toutes les combinaisons que révèle l'expérience entre les proportions de dextrine et de maltose. La complexité de la molécule originaire d'amidon était nécessairement d'autant plus grande que les combinaisons de ses produits de dislocation étaient plus nombreuses; si on veut bien me permettre une comparaison, la molécule d'amidon était un cube de briques, dans lequel devaient entrer d'autant plus de briques qu'il y avait plus d'arrangements possible dans les produits de démolition; mais chacun de ces produits, maltose ou dextrines diverses, devait différer de celui qui s'en rapprochait le plus au moins de l'épaisseur d'une brique, c'est-à-dire d'une molécule $C^6H^{10}O^5$.

Dans la réalité, ce n'est qu'approximativement qu'on trouve ces différences, et c'est en donnant un coup de pouce aux chiffres qu'on les met d'accord avec l'idée préconçue. Nous avons du reste vu que le nombre des degrés intermédiaires qu'on établissait ainsi devenait d'autant plus grand qu'on y regardait de plus près. Entre un escalier à marches nombreuses et usées que révèle l'expérience, et le plan incliné qui résulte de notre conception, il n'y a pratiquement aucune différence.

L'interprétation que je propose ne se heurte donc à aucune contradiction expérimentale, et a l'avantage de faire disparaître toutes les obscurités relatives aux dextrines. Elle ne nous en montre qu'une, plus ou moins difficile à saccharifier, mais toujours la même, de même qu'elle ne nous indique qu'un amidon, plus ou moins difficile à gélatiniser et à dextrinifier suivant son degré de cohérence, mais toujours semblable à lui-même par ses propriétés chimiques. En cela, notre conception reste d'accord avec les enseignements de la cryoscopie, de la mesure du pouvoir rotatoire, de celle du pouvoir réducteur, qui tous nous disent : nous n'apercevons aucune différence entre les dextrines préparées à diverses températures et inégalement difficiles à saccharifier.

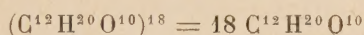
C'est ici le moment de remarquer que ces dextrines différentes, dont l'interprétation a soulevé tant de difficultés et fait naître tant de théories, sont celles qui se produisent entre 64° et 70° , c'est-à-dire dans des limites étroites de température, précisément voisines de celle où la diastase se coagule et se détruit sous l'action de la chaleur. Au-dessous de 63° et jusqu'à la température ordinaire, aucunedifférence entre les dextrines produites. Au-dessus de 64° et jusqu'à 70° , trois dextrines au moins d'après O'Sullivan, qui est le plus modéré dans ses évaluations, un plus grand nombre suivant d'autres savants, et c'est sur ces dextrines de la zone dangereuse que s'appuient toutes les théories, car pour celle au-dessous de 63° , cela va tout droit, sans explication.

Pour nous, ces dextrines au-dessus de 63° sont des dextrines en voie de dislocation physique, en voie de perdre leur état de coagulation. Si on veut bien se rapporter à une *Revue* sur les phénomènes de coagulation, insérée dans ces *Annales* (t. VI. p. 584), on verra qu'il peut y avoir coagulation même dans un liquide où il n'y a pas de précipité. Les dextrines difficiles à dissocier et à saccharifier doivent précisément dominer dans le mélange, quand la diastase est affaiblie par l'action de la chaleur, c'est-à-dire aux températures qui précèdent sa destruction. Plus la diastase s'approche de ce point, plus elle laisse de dextrines intactes, ou mélangées d'amidon intact, et en somme, tout ce que nous faisons, dans notre conception, c'est de refuser le premier plan aux phénomènes qui se passent au moment où la diastase se détruit, pour y laisser ceux que peut produire cette diastase dans ses meilleures conditions d'activité.

IV

Nous avons un dernier point à viser en terminant. La théorie de la saccharification, introduite dans la science par Musculus, mettait en avant un certain nombre d'arguments que les progrès faits depuis ont beaucoup ébranlés. D'abord le mode de dislocation de la molécule d'amidon, que Musculus croyait simple, s'est compliqué de plus en plus. Il croyait que la dextrine formée par cette dislocation était inattaquable par l'amylase. Nous savons aujourd'hui que c'est « peu attaquable, ou lentement attaquable » qu'il faut dire. En plus, les différences entre les dextrines, différences qui avaient fait accepter comme possibles une foule de modes de désintégration d'une même molécule amyliacée peuvent, comme nous l'avons vu, recevoir une autre explication. En somme, nous ne trouvons plus aucun argument pour étayer cette dislocation graduelle de la molécule d'amidon, cet effeuillement avec séparations simultanées de feuillettes de dextrines et de feuilles de maltose. L'aspect du phénomène s'accorde tout aussi bien avec l'idée d'une molécule amyliacée donnant de la dextrine qui donnerait à son tour du maltose, par un procès analogue à celui de la théorie de Payen. Seulement, cette transformation en dextrine d'abord, en maltose ensuite, ne marche pas avec la même rapidité pour les divers éléments constituant du grain d'amidon. Certains sont déjà saccharifiés alors que d'autres sont encore à l'état de dextrine, d'autres même encore intacts, et nous nous expliquons ainsi cette augmentation graduelle dans la quantité de maltose, cette diminution correspondante dans la quantité de dextrine que Musculus avait dû laisser dans l'ombre, incapable qu'il était de l'expliquer. La théorie de la dislocation voulait en effet qu'il y eût, dès l'origine, un rapport constant entre la quantité de dextrine et la quantité de maltose.

Si de ce côté nous revenons aux idées de Payen, nous gardons pourtant de celles de Musculus le mot de dislocation, car il est devenu impossible de croire, avec Payen, que c'est une molécule d'amidon qui donne une molécule de dextrine et celle-ci une molécule de sucre. Nous savons que le poids moléculaire de la dextrine est plus considérable que celui du maltose, 18 fois plus grand environ, s'il faut accorder une confiance absolue à la cryoscopie et aux nombres qu'en ont tiré MM. Brown et Morris. La formule de transformation de la dextrine en maltose est donc peut-être :



où une molécule de dextrine donne 18 molécules de maltose. De même, en partant du nombre de 17,500 environ, trouvé par MM. Lintner et Dull pour le poids moléculaire de l'amylo-dextrine, on pourrait conclure qu'une molécule d'amylo-dextrine donne 3 molécules de dextrine et, par suite, 54 molécules de maltose. C'est du dédoublement, ceci, sans être pourtant ce dédoublement graduel des théories actuelles, et c'est ainsi que la science prend ce qu'elle croit bon dans la théorie de Payen et dans celle de Musculus, parce que les hommes et les noms lui sont indifférents, et que sa seule ambition est de se rapprocher des choses.

DUCLAUX.

INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE

OCTOBRE, NOVEMBRE, DÉCEMBRE 1894

| | | A | | B | | C | |
|---|---------------------|-----|----|-----|-----|----|----|
| Morsures à la tête | simples | » | 2 | » | 14 | » | 2 |
| et à la figure | multiples | » | 4 | » | 7 | » | 6 |
| Cautérisations efficaces | | » | » | » | » | » | 4 |
| — inefficaces | | 3 | » | » | 5 | » | » |
| Pas de cautérisation | | 1 | » | » | 16 | » | » |
| Morsures aux mains | simples | » | 12 | » | 63 | » | 11 |
| | multiples | » | 27 | » | 63 | » | 26 |
| Cautérisations efficaces | | 3 | » | » | 4 | » | » |
| — inefficaces | | 15 | » | » | 53 | » | 13 |
| Pas de cautérisation | | 9 | » | » | 69 | » | 13 |
| Morsures aux mem- | simples | » | 17 | » | 25 | » | 15 |
| bres et au tronc | multiples | » | 26 | » | 34 | » | 33 |
| Cautérisations efficaces | | 1 | » | » | » | » | » |
| — inefficaces | | 12 | » | » | 28 | » | 19 |
| Pas de cautérisation | | 13 | » | » | 31 | » | 14 |
| Habits déchirés | | 25 | » | » | 49 | » | 32 |
| Morsures à nu | | 1 | » | » | 10 | » | 1 |
| Morsures multiples en divers points du | | » | » | » | » | » | » |
| corps | | » | 1 | » | 4 | » | » |
| Cautérisations efficaces | | » | » | » | » | » | » |
| — inefficaces | | 1 | » | » | 2 | » | » |
| Pas de cautérisation | | » | » | » | 2 | » | » |
| Habits déchirés | | 1 | » | » | 3 | » | » |
| Morsures à nu | | » | » | » | 1 | » | » |
| Totaux. } Français et Algériens | | 38 | 58 | 170 | 210 | 56 | 65 |
| Etrangers | | 20 | | 40 | | 9 | |
| | | A | | B | | C | |
| TOTAL GÉNÉRAL | | 333 | | | | | |

Les animaux mordeurs ont été : chats, 17 fois ; chiens, 316 fois.

Le Gérant : G. MASSON.